REVUE DE MYCOLOGIE

Directeur : Roger HEIM

Mémoire hors-série N° 3 1er Juin 1943

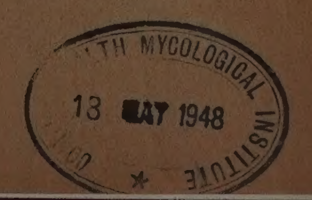
LES CONSTITUANTS DE LA MEMBRANE CHEZ LES CHAMPIGNONS

Par Roger ULRICH

Agrégé de l'Université

Docteur ès-sciences

LABORATOIRE DE CRYPTOGAMIE
DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
12, rue de Buffon, Paris (V°)
1943



LES CONSTITUANTS DE LA MEMBRANE CHEZ LES CHAMPIGNONS

Par Roger ULRICH

AGRÉGÉ DE L'UNIVERSITÉ, DOCTEUR ES-SCIENCES

Les constituants essentiels de la membrane des Champignons sont encore bien mal connus malgré les nombreux travaux qui leur ont été consacrés (1). Leur étude est très complexe, en particulier pour les raisons suivantes :

1. Ces constituants sont mêlés à de nombreux produits accessoires glucidiques, pigmentaires ou cristallins qui gênent les observations;
2. Les réactions des substances présentes sont parfois très voisines les unes des autres ce qui rend les confusions faciles;
3. On se contente trop souvent, dans l'étude des membranes, de l'emploi de colorants dont la spécificité est discutable; nous reviendrons sur ce point dans un prochain paragraphe.

Certains aspects de la question ont été étudiés dans des ouvrages généraux auxquels nous avons fait des emprunts fréquents tels que ceux de ZELLNER, de VAN WISSELINGH (3), de COMBES, de KLEIN et de NORMAN. Nous renvoyons à ces derniers ouvrages pour la plupart des références bibliographiques ne se rapportant pas exclusivement aux Champignons (2).

HISTORIQUE SOMMAIRE

Pour s'en tenir à un aperçu général, on peut classer les travaux parus sous quatre titres :

1. Recherche de la cellulose chez les Champignons.

(1) Les numéros placés, dans le texte, à la suite des noms d'auteurs, se retrouvent dans l'index bibliographique.

(2) Je tiens à remercier ici M. le Professeur Roger HEIM et mon ami CHADEFAUD qui ont apporté d'utiles corrections au manuscrit originel.

2. Mise en évidence et dosage de la chitine.

3. La callose, les composés pectiques et les travaux de MANGIN.

4. Les constituants secondaires des membranes et les recherches récentes.

1. Recherche de la cellulose.

Vers 1811, BRACONNOT isola des Champignons, après expression et traitement du résidu par l'eau, l'alcool et un alcali dilué, un produit azoté qu'il nomma *fongine*. Divers chercheurs reprenant ces travaux (VAUQUELIN, PAYEN, SIEBER, DREYFUSS) estimèrent que la fongine était de la cellulose plus ou moins pure. Par contre, BOUDIER, RICHTER, WINTERSTEIN (1), MANGIN (5) et leurs successeurs insistèrent sur le fait que le produit essentiel de la membrane diffère de la cellulose par des caractères importants : absence de coloration bleue par le chlorure de zinc iodé (sauf après action de la potasse), solubilité faible ou nulle dans la liqueur de SCHWEIZER, présence d'azote dans la molécule, obtention d'éther acétique après hydrolyse en présence d'alcool... Ces propriétés particulières avaient conduit DE BARY à donner au constituant de la membrane des Champignons le nom particulier de « Pilzcellulose ». Il résulte de l'ensemble de ces faits que la cellulose n'est pas le constituant essentiel des Champignons.

2. Découverte et dosage de la chitine.

GILSON (1) ayant extrait la « mycosine » de la Psalliote fixa sa formule chimique et observa que ce produit fournissait par hydrolyse acide de la glucosamine. WINTERSTEIN (2) expérimenta sur diverses espèces appartenant aux genres *Boletus, Agaricus, Cantharellus, Penicillium, Botrytis*... Il en isola une substance azotée fournissant par hydrolyse de l'acide acétique, des sucres et un résidu azoté; il ne pouvait pas être question pour l'auteur d'un mélange de cellulose avec une impureté. L'année suivante (4), le même chercheur obtint du chlorhydrate de glucosamine à partir de la membrane de diverses espèces (*Agaricus, Morchella, Botrytis*...), et il tira du même matériel de la chitosane. Or la chitine animale fondue avec de la potasse produit de la chitosane dont la destruction par l'acide chlorhydrique engendre de la glucosamine. GILSON (2 et 3) démontra ensuite l'identité de sa mycosine avec la chitosane de HOPPE-SEYLER, et il l'obtint à l'état pur à partir de diverses espèces appartenant aux genres *Agaricus, Amanita, Polyporus*... Pour TANRET (1), la fongine est un mélange de chitine et d'un glucide, le fongose. VAN WISSELINGH (2) appliqua de son côté à la technique microscopique les réactions caractéristiques de la chitine, et démontra sa présence chez de nombreuses espèces. SCHOLL, PROSKURIAKOW, SCHMIDT précisèrent enfin les données antérieures en publiant les résultats de leurs dosages.

3. La callose et les composés pectiques; les recherches de Mangin.

MANGIN fournit une importante contribution à l'étude des membranes chez les Champignons en découvrant la callose (4). A l'aide de techniques histochimiques et de colorants qu'il choisit et dont il fixa l'emploi, il étudia en outre la répartition systématique des principaux constituants des parois cellulaires, abstraction faite de la chitine : hémicelluloses, composés pectiques, cellulose, oxalate de calcium...

Il eut en particulier le mérite de montrer la complexité chimique des membranes alors que les termes de fungine, de métacellulose (FRÉMY), de Pilzcellulose antérieurement utilisés laissaient supposer la présence d'un constituant unique.

4. Les constituants secondaires des membranes; les recherches récentes.

Parmi les travaux récents, il faut placer au premier plan les recherches purement chimiques sur la chitine (BERGMANN et ses collaborateurs), les composés pectiques (EHRLICH et ses collaborateurs), les pigments (KÖGL...), les résines. D'autres constituants des membranes ont été étudiés sur les Champignons par divers chercheurs, notamment les hémicelluloses (SCHUSSNIG et BECKER, ZECHMEISTER et TÓTH...), les mucilages (QUILLET), les pigments (KÜHNER, R. HEIM), la callose (THOMAS), les albumines (WETTSTEIN), la lignine (THOM et PHILLIPS). La complexité chimique de la paroi cellulaire est apparue de plus en plus grande, et des essais de localisation précise de ses divers constituants ont été tentés, notamment par THOMAS. Après VAN WISSELINGH et MANGIN dont les travaux sont fondamentaux, WETTSTEIN a repris l'étude de la répartition systématique de la chitine et de la cellulose, et a cherché à en tirer des conclusions sur la phylogénie des Champignons. Il reste encore en dépit de ces travaux d'importants problèmes à résoudre; ils seront mis en évidence dans les pages qui suivent.

Avant d'entreprendre l'étude particulière des divers constituants des membranes, il serait utile d'en dresser un tableau fondé sur un classement rationnel, mais un tel travail est encore impossible. Du point de vue chimique, on ignore ce que sont exactement les gommes, de nombreux pigments, les résines des Champignons. On ne peut même pas distinguer les constituants essentiels des substances accessoires, car la chitine, sur laquelle on a tant insisté, et qui devrait appartenir au premier groupe, forme à peine 5 % de la matière sèche des membranes. Il nous paraît donc prématuré de classer les constituants immédiats des parois cellulaires des Champignons, et nous nous contenterons de donner l'énumération suivante qui constituera le plan de ce travail :

Chitine (noyau d'acétylglucosamine).
Cellulose (noyau de β-glucose).
Hémicelluloses et substances voisines (?) : callose, amyloïdes.

Composés pectiques.
Mucilages.
Lignine.
Liège.
Corps gras.
Résines.
Albumines.
Pigments.
Sels (carbonate et oxalate de calcium).

Chacun de ces constituants fera l'objet d'une courte monographie, mais il nous paraît utile de débuter par un chapitre sommaire consacré aux techniques microscopiques employées dans l'étude des membranes.

REMARQUES GENERALES CONCERNANT LES TECHNIQUES

Dans la recherche des constituants des membranes, il n'est pas indifférent d'opérer sur du matériel frais ou sur des objets conservés. De nombreuses réactions dépendent de l'acidité du milieu qui peut être modifiée par des résidus de liquide fixateur. Dans un autre ordre d'idées, la déshydratation des tissus réduit parfois considérablement l'épaisseur des membranes, et peut rendre l'étude de leur structure intime beaucoup plus difficile. Il est donc recommandable d'observer les parois cellulaires sur du matériel réservé exclusivement à cette fin, sans chercher à conserver simultanément le cytoplasme et le noyau.

Les réactifs employés dans l'étude des membranes sont très nombreux, et leur emploi renseigne sur certaines propriétés physiques ou chimiques des substances présentes. De même qu'en macrochimie, on doit, pour identifier un corps, vérifier le plus grand nombre possible de propriétés, il est nécessaire, pour affirmer la présence de tel constituant dans une membrane, d'utiliser le plus grand nombre possible de tests, les uns physiques, les autres chimiques. Les caractéristiques physiques sont d'autant plus importantes qu'elles sont souvent à l'origine même de la distinction des substances des membranes. Ainsi les signes les plus sûrs pour reconnaître le bois, le liège, les résines, les mucilages concernent la perméabilité, la capacité de gonflement au contact de l'eau, ou la nature des sensations fournies par le toucher. De tels essais ne sont malheureusement pas souvent réalisables; on doit alors utiliser des réactions applicables à l'échelle microscopique.

Ces dernières peuvent être classées en trois groupes :

1. Les plus employées reposent sur la fixation de colorants par adsorption, phénomène identique à la teinture des fibres textiles. Cette fixation dépend surtout de l'état physique des surfaces, de leur charge électrique, etc. Les réactions de coloration ne sont donc pas suffisantes

pour affirmer la présence d'une substance déterminée dans un tissu. Ainsi, la réaction amyloïdique, coloration en bleu plus ou moins franc en présence d'eau iodée, est positive avec de nombreuses espèces chimiques : amidon, produits d'hydrolyse de la cellulose, glucides voisins des hémicelluloses (amyloïdes), isolichénine de *Cetraria islandica*, alcool polyvinylique, précipités finement divisés de propionate et d'acétate de lanthane et de praséodyme, acétocoumarine, etc.; le mécanisme de ces colorations est encore imparfaitement connu (cf. MEYER et BERNFELD). Si cette réaction fournit en systématique des éléments de comparaison incontestablement utiles, elle ne donne que de vagues indices du point de vue chimique. On doit s'en méfier d'autant plus que l'eau iodée utilisée par les divers auteurs n'a pas toujours la même composition; en outre, l'addition fréquente d'hydrate de chloral (3) lui confère une acidité capable de modifier les propriétés originelles de la membrane étudiée.

De nombreux colorants ont été conseillés; signalons le bleu de crésyle récemment proposé par KÜHNER (2) et qui colore les membranes tantôt en bleu (cystides d'Inocybe), tantôt en rouge vineux (métachromasie; nombreuses cystides); on connaît mal le mécanisme de cette coloration.

Certains colorants peuvent se fixer, dans des conditions convenables de pH, sur les membranes des gamètes ou sur celles des cellules d'un seul sexe; leur emploi peut être utile en biologie mais ne renseigne pas sur la nature chimique des parois (ex. travail de JOHANNES).

2. Certains constituants sont déterminables grâce à la facilité avec laquelle on peut les éliminer des tissus. Toute substance peut disparaître dans des conditions bien définies et spécifiques, soit par dissolution, soit par volatilisation, soit par destruction chimique aboutissant à des corps solubles ou volatils. Ainsi, on peut caractériser la cellulose à l'aide de la liqueur de Schweizer. VAN WISSELINGH a montré que la glycérine chauffée à 300° fait disparaître le liège et les composés pectiques, mais respecte la cellulose et la chitine. On peut employer l'acide sulfurique concentré et l'acide chromique à 50 % dans la recherche de la subérine et de la cutine, et l'eau oxygénée, l'oxalate d'ammonium à 0,5 % ou le mélange de SCHULZE dans l'étude des composés pectiques, etc. Ces réactions sont excellentes mais trop peu nombreuses.

3. Dans un dernier groupe, on peut réunir les réactions caractérisées par l'apparition d'une substance nouvelle et bien visible sous le microscope, dérivée chimiquement d'un constituant initial déterminé. Ainsi, la cellulose attaquée par la chlorure de zinc engendre un produit présentant la réaction amyloïdique; le liège peut fournir du phellonate de potassium colorable, la chitine peut donner des cristaux de sulfate de

(3) Réactif de MELZER : sol. iodo-iodurée additionnée d'un égal volume d'hydrate de chloral (MELZER).

chitosane, les graisses peuvent être transformées en aiguilles de savons, etc. Ces réactions sont très intéressantes surtout lorsque la nature chimique du corps néoformé peut être contrôlée par sa solubilité, ses propriétés optiques, etc.

Bien qu'essentielles, les réactions histochimiques ne permettent pas de résoudre toutes les difficultés; certains constituants peuvent être liés physiquement ou chimiquement à d'autres substances qui leur font perdre leur physionomie habituelle. Ainsi, MANGIN a dissous très difficilement la cellulose des Péronosporées; MANGIN, THOMAS ont observé qu'une couche extérieure de substances azotées, de composés pectiques ou d'acides gras peut considérablement gêner la pénétration des réactifs. Des pigments sombres masquent souvent les colorations; VAN WISSELINGH s'en est fréquemment débarrassé en traitant les tissus par l'acide chromique dilué (2).

La méconnaissance de ces quelques données explique en partie les nombreuses lacunes de nos notions sur la membrane des Champignons. Il ne faut pas oublier non plus que les progrès dans ce domaine seraient plus sûrs et plus rapides si les recherches microscopiques pouvaient être entreprises parallèlement à des travaux purement chimiques.

CHAPITRE PREMIER

LES PRINCIPAUX CONSTITUANTS DES MEMBRANES DES CHAMPIGNONS

1. La chitine

Constitution. — Des recherches portant sur les propriétés physiques (réfringence, viscosité, diagramme de rayons X), sur les propriétés chimiques et sur la destruction enzymatique ont montré l'identité de la chitine végétale avec celle des arthropodes. Sa constitution correspondrait à la formule: $(C_6H_9O_4NHCOCH^3)_m$ (ZECHMEISTER et TOTH) (3). Son hydrolyse en présence d'acide se fait conformément à l'équation :

chitine + eau → glucosamine + acide acétique

= (chitosamine) d-glucosamine

chitobiose $C^{12}H^{20}O^9(NH^2)^2$

Chitine (MEYER et MARK) (Ac = le groupement acétyle, $CO—CH^3$)

l'acide chlorhydrique employé se combine avec la glucosamine pour donner un chlorhydrate. Comme chaque groupement glucosamine correspond à un reste acétique, l'élément fondamental de la chitine est le radical acétylglucosamine; sa répétition engendre de longues chaînes, de même que la juxtaposition de restes de glucose engendre la cellulose. Les cycles de radicaux d'acétylglucosamine seraient unis par des ponts d'oxygène 1-4, et disposés de telle façon que l'orientation de chacun d'eux corresponde à une rotation de 180° par rapport au précédent (BERGMANN, ZERVAS et SILBERKWEIT).

L'analogie de quelques réactions des membranes de chitine et de cellulose s'expliquerait par la ressemblance des squelettes micellaires; dans les deux cas, la structure est fibreuse et comporte de longues chaînes d'éléments hexagonaux formés de restes glucidiques.

Propriétés. — La chitine pure est blanche, amorphe, insoluble dans l'eau, les solvants organiques et la liqueur de Schweizer. Elle se dissout dans l'acide chlorhydrique et l'acide sulfurique concentrés d'où l'on peut la précipiter. Le produit obtenu par dissolution dans l'acide chlorhydrique concentré est optiquement actif et permet des mesures polarimétriques. La chitine résiste à l'action de la glycérine à 300° et ne réduit pas la liqueur de FEHLING.

L'acétolyse fournit un octoacétate d'un disaccharide : le *chitobiose* (BERGMANN, ZERVAS et SILBERKWEIT) dont la constitution a été établie par BERGMANN. ZECHMEISTER et TOTH (1) ont obtenu un undécaacétyl-chitotriose : $C_{18} H_{24} O_{13} N_3 (OC CH_3)^{11}$.

Certains enzymes sont capables de dissocier la molécule de chitine avec production d'acétylglucosamine ou de polyglucosamines; c'est le cas pour la chitinase de l'hépatopancréas d'escargot. L'émulsine, l'extrait d'*Aspergillus orizae* renferment aussi des chitinases (ZECHMEISTER et TOTH) (3). Les filaments d'*Empusa muscae*, de *Cordyceps*, capables de traverser les carapaces d'insectes, sont peut-être générateurs de diastases analogues. Certaines bactéries du sol tels que *Bacillus chitinobacter, Bacterium chitinophagum* de BUCHENER, des moisissures, font entrer la chitine dans le cycle des transformations des matières azotées par les agents biologiques.

La propriété chimique la plus importante dans le cadre de cette étude est sans doute l'action des alcalis concentrés qui fait apparaître de l'acide acétique et de la *chitosane* (ou mycosine). Les propriétés de ce nouveau produit sont les suivantes : solubilité dans l'acide chlorhydrique à 2 1/2 % et dans l'acide acétique dilué, coloration en brun violacé par l'eau iodée avec virage au violet-rouge en présence d'acide sulfurique, coloration bleue avec le chlorure de zinc iodé et en écarlate avec le brome (KLEIN). La chitosane fixe le rouge Congo, la fuchsine acide, le bleu d'aniline, la nigrosine (BRUNSWIK); elle se colore en outre par l'acide picrique et se combine avec les acides pour former des sels facilement cristallisables.

Réactions utilisables en microscopie. — Les réactions utilisables en microscopie dérivent des propriétés précédentes. Elles sont délicates et nécessitent l'emploi de réactifs très purs.

a. *Méthodes de la chitosane* (VAN WISSELINGH). Elles reposent sur la transformation de la chitine en chitosane colorable par l'acide sulfurique iodé. On chauffe les préparations au bain d'huile à 160°, en tube scellé, avec de la potasse concentrée; on lave à l'alcool à 95°, puis à l'eau distillée; on traite par l'eau iodée, puis par l'acide sulfurique *dilué* : on observe une coloration violette au niveau des membranes de

chitine. Si l'acide dilué (1 %) est ensuite remplacé par de l'acide à 66 % environ, la coloration violette disparaît mais il se développe une coloration bleue dans les régions cellulosiques s'il en existe. L'acide chromique à 1 % permet de se débarrasser des produits bruns qui peuvent résulter de l'action de la potasse. La même technique peut subir une variante, l'acide sulfurique iodé étant remplacé par l'acide picrique; on lave la préparation et la chitosane reste seule colorée (KLEIN). D'autres propriétés de la chitosane peuvent être vérifiées.

Le chauffage en tube scellé offrant quelques difficultés pratiques, VOUK a proposé de modifier le mode opératoire : il chauffe jusqu'à l'ébullition pendant une demi-heure en présence de potasse concentrée et à l'air libre. Cette technique ne paraît pas convenir pour les objets délicats (WETTSTEIN).

b. *Méthode des sels de chitosane* (BRUNSWIK). Le sulfate et le nitrate de chitosane sont peu solubles dans l'eau et donnent par refroidissement lent des solutions mères, des sphérocristaux visibles entre lame et lamelle et présentant la croix noire entre nicols croisés; ils sont en outre colorables par l'orange G, la fuchsine acide, etc. On peut opérer de la manière suivante (4) : les objets très incrustés sont préalablement chauffés à 300° avec de la glycérine, ou traités par le mélange de chlorate de potasse et d'acide chlorhydrique; on les place ensuite dans des tubes avec de la potasse à 50 % et on chauffe à 180° pendant une demi-heure. On refroidit, on ouvre les tube et on lave le matériel à l'alcool et à l'eau. L'examen microscopique a lieu en présence d'eau iodée et d'acide sulfurique à 10 %. Si la coloration violette apparaît, on chauffe puis on laisse refroidir sur un thermostat à 70° : du sulfate de chitosane apparaît, coloré en violet grâce à la présence d'iode dans le milieu.

c. *Colorations*. Certains auteurs prétendent avoir observé une coloration directe des membranes chitineuses par le chlorure de zinc iodé; le fait reste douteux. Les recherches de MEHTA qui ont porté sur de nombreuses espèces ont fourni les résultats suivants : la chitine n'est pas colorable en présence de phloroglucine chlorhydrique, de vert malachite alcoolique, d'acide picrique, de bleu d'aniline, mais *elle fixe énergiquement le rouge Congo* en solution aqueuse à 1/200.

Répartition de la chitine dans les divers groupes de Champignons. — La présence de la chitine chez les Champignons a été découverte ainsi qu'il a été dit par GILSON et par WINTERSTEIN vers 1894. Sa répartition a été ensuite étudiée par des méthodes macro et histo-chimiques.

Les premières ont montré la présence de chitine chez diverses espèces des genres : *Agaricus* (*Psalliota*), *Amanita, Cantharellus, Polyporus, Hypholoma, Russula, Boletus, Tricholoma, Bovista, Claviceps* (d'après GILSON), *Morchella, Botrytis, Polyporus, Agaricus* (d'après WINTERSTEIN), *Claviceps, Boletus, Polyporus, Aspergillus* (d'après TAN-

(4) KÜHNELT, d'après KLEIN.

RET) (2), *Aspergillus, Boletus, Claviceps* (d'après IWANOFF), etc. Les méthodes macrochimiques n'ont pas permis de déceler de chitine chez *Saccharomyces cerevisiae* (TANRET). Les recherches de SCHOLL sur *Boletus edulis* et de PROSKURIAKOW sur diverses espèces d'*Agaricus, Lactarius, Armillaria* et *Polyporus* ont apporté des précisions sur la teneur des thalles en chitine; les résultats obtenus surprennent par leur faiblesse; ils sont de l'ordre de 3 à 6 % de la matière sèche. TAKATA a extrait 3 % de chitine du thalle d'*Aspergillus oryzae.* SCHMIDT a employé lui aussi les techniques macrochimiques; il a rencontré la chitine chez des Mucoracées (*Absidia glauca* et *cylindrospora, Mucor silvaticus, pusillus* et *hiemalis, Mortierella*), chez *Pythium de Baryanum,* dans trois Polyporées dont *Coriolus* (*Polystictus*) *versicolor* et *Ungulina* (*Fomes*) *fomentaria,* chez *Oidium lactis* et dans des levures filamenteuses (*Endomycopsis capsularis* et *fibuliger, Eremascus fertilis*). Les teneurs en chitine observées sont faibles comme dans les travaux antérieurs; elles atteignent un maximum de 5,6 % chez *Eremascus fertilis.* Enfin, SCHMIDT a montré combien la teneur en chitine est susceptible de varier avec la réaction plus ou moins acide du milieu de culture.

On doit à VAN WISSELINGH (2) de nombreuses observations microscopiques; il a reconnu la présence de chitine dans des échantillons appartenant aux genres *Synchytrium, Mucor, Phycomyces, Rhizopus, Sporodinia, Empusa, Sphaerotheca, Erysiphe, Phyllactinia, Eurotium, Penicillium, Elaphomyces,* chez *Sterigmatocystis,* dans de nombreux Discomycètes et Pyrénomycètes, chez des Exoascées, des Ustilaginées, des Urédinées, des Trémellacées, de nombreux Hyménomycètes et Gastéromycètes. Tous les Basidiomycètes étudiés renferment de la chitine. Les Myxomycètes en sont dépourvus sauf *Plasmodiophora* (spores); les Monoblépharidées, Saprolégniées, Péronosporées et Saccharomycétées observées n'en renferment pas.

CIHLAR appliquant la méthode de VOUK n'a pas trouvé de chitine dans les Myxomycètes étudiés (*Æthalium, Arcyria, Lycogala, Trichia, Hemitrichia*) à l'exception du capillitium de *Stemonitis fusca.*

Enfin, WETTSTEIN a réalisé avec le plus grand soin les diverses réactions de la chitine sur de très nombreuses espèces. Il n'en a rencontré parmi les Myxomycètes que chez *Plasmodiophora;* chez les Champignons inférieurs, elle existe là où la cellulose manque (*Empusa, Synchytrium,* diverses Mucoracées...), mais inversement, elles manque chez les Oomycètes. Enfin, la chitine est un constituant caractéristique des Champignons supérieurs (sauf les Saccharomycétées et les Laboulbéniacées).

Il résulte de l'ensemble de ces observations que la chitine est un constituant de la membrane de nombreux Champignons, qu'elle paraît constante dans les groupes les plus évolués, mais qu'on ne l'y observe jamais en abondance (5).

(5) Pour résumer plus clairement la répartition des divers constituants des membranes à travers les groupes de Champignons, un tableau général a été dressé à la fin de ce chapitre (p. 31).

2. *La cellulose*

Constitution. — La cellulose est un polyholoside de formule $(C_6H_{10}O_5)_n$ dont l'hydrolyse fournit du β-glucose. Si la désintégration de la molécule est réalisée incomplètement, sous l'action de l'acide chlorhydrique à 40 % ou de l'anhydride acétique, on peut obtenir divers holosides ou leurs acétates : le cellobiose $(C_{12}H_{22}O_{11})$, le cellotriose, un cellotétrose, un cellohexose. La molécule de cellulose peut être considérée comme une chaîne de restes de β-glucose reliés par des ponts d'oxygène disposés comme dans le cellobiose. Si l'on représente, à la suite d'HAWORTH, les radicaux glucose sous forme de cycles, on aboutit aux configurations ci-dessous :

β-glucose

cellobiose

Fragment d'une chaîne de restes de β-glucose (MEYER et MARK)

Dans les membranes, les chaînes de cellulose seraient groupées en faisceaux ou micelles anisotropes, orientés de diverses manières mises en évidence grâce aux recherches utilisant les rayons X et la lumière polarisée. L'ordre de grandeur de ces micelles serait de 0 μ 075; elles seraient enrobées dans une substance interstitielle isotrope (composés pectiques chez les végétaux supérieurs).

Principales propriétés. — La cellulose est insoluble dans les solvants usuels (eau, alcool, éther, etc.), dans l'eau de Javel, le bisulfite de soude, le mélange de SCHULZE, l'eau de chlore; elle est soluble par contre dans la liqueur de SCHWEIZER (liqueur cupro-ammoniacale) d'où on peut la précipiter par addition d'un acide. L'acide sulfurique concentré dissout également la cellulose en la détruisant, ainsi que l'acide chlorhydrique très concentré et l'acide chromique à 50 %. L'acide sulfurique à 66 % l'altère à froid en déterminant l'apparition de produits colorables en bleu par l'iode; la même coloration s'observe si l'acide sulfurique est remplacé par l'acide phosphorique, le chlorure

de zinc, le chlorure de calcium, etc. Le mélange d'acide azotique et d'acide sulfurique fournit des nitro-celluloses. L'acide azotique et l'acide chromique peuvent l'un comme l'autre transformer la cellulose en oxycelluloses. Enfin, les acides minéraux dilués sont sans action ce qui différencie la cellulose des hémicelluloses. Les alcalis sont sans effet en solution diluée, mais la soude concentrée détermine la mercerisation. Le traitement des organes par les alcalis caustiques à 180° a été fréquemment employé pour isoler la cellulose. Ce polyholoside est attaqué par de nombreux microbes avec production de glucose, d'hydrogène, de méthane, de gaz carbonique, d'acide butyrique, etc. (Cf. Thaysen et Bunker). Certaines diastases l'attaquent et le dissolvent : la cellase du foie de l'escargot, les enzymes de divers Hyménomycètes (Lutz), etc.

Réactions utilisables en microscopie. — Un certain nombre des propriétés précédentes ainsi que quelques autres permettent de reconnaître la cellulose sur les préparations microscopiques; nous les classerons en quatre groupes.

a. La cellulose résiste lorsqu'on traite les tissus par la glycérine à 300° en tube scellé (chauffage au bain d'huile; méthode de Van Wisselingh);

b. Elle disparaît au contact de l'acide sulfurique concentré ou de la liqueur de Schweizer; dans ce dernier cas, on peut la faire reparaître sous forme de sphérocristaux colorables par le rouge Congo en traitant les coupes par l'ammoniaque et les lavant ensuite avec soin (méthode de Gilson);

c. La cellulose se colore en bleu sous l'action de l'acide sulfurique iodé ou du chlorure de zinc iodé. Cette réaction très employée n'est malheureusement pas absolument spécifique; elle s'observe aussi avec certaines hémicelluloses. On doit en outre toujours essayer parallèlement l'action de l'eau iodée seule sur l'objet étudié. Rappelons que la chitosane, qui prend naissance dans le traitement des membranes chitineuses par les alcalis, donne des colorations analogues. Comme certains auteurs utilisaient un traitement alcalin pour éclaircir leurs préparations avant de les colorer, des confusions graves ont été commises entre chitine et cellulose; Van Wisselingh a insisté sur les précautions à prendre pour éviter de telles méprises.

d. Les parois cellulosiques ont une affinité marquée pour le rouge Congo, la benzoazurine, les azobleus après traitement alcalin, pour l'orseilline BB en milieu acide; elles n'ont qu'une faible tendance à fixer le bleu de méthylène et le rouge de ruthénium en solutions très diluées.

Répartition de la cellulose dans les divers groupes de Champignons. — De Bary a signalé la possibilité d'obtenir une coloration bleue sous l'action de l'acide sulfurique iodé et du chlorure de zinc iodé en opérant avec des filaments de Saprolégniées, de Péronosporées et de cer-

tains Mucors, avec des périthèces de *Penicillium* et des hyphes de diverses Clavariées. Dans certains cas, les membranes jeunes donneraient seules des réactions positives (Zopf). Mangin (4) a reconnu la présence de cellulose chez des Péronosporées, des Saprolégniées, des Mucoracées et des Urédinées. Par contre, Gilson (1) n'est pas parvenu à l'isoler à partir d'*Agaricus campestris* et de *Claviceps purpurea*. Van Wisselingh l'a décelée chez *Didymium* (spores), *Plasmopara, Phytophthora, Peronospora, Cystopus* et *Saprolegnia,* mais ses recherches ont été négatives parmi les Champignons supérieurs. Petersen a signalé la présence de cellulose chez *Pythium, Achlya, Saprolegnia, Aphanomyces*... Jahn, Wettstein l'ont mise en évidence dans les membranes, à certains stades du développement, chez *Stemonitis* et *Comatricha.* Wettstein a confirmé la présence de cellulose chez les Oomycètes (Phycomycètes) et son absence totale dans la membrane des Basidiomycètes. Lutz rapporte que les membranes jeunes de certaines espèces de Russules, Lactaires, *Leucopaxillus,*... donneraient les réactions de la cellulose.

L'examen de cette répartition, comparativement à ce qu'on sait de la chitine, montre que ces deux constituants importants paraissent s'exclure l'un l'autre; certaines exceptions peuvent être relevées dans le tableau d'ensemble (p. 30) (*Stemonitis, Mucor, Penicillium, Botrytis*), *mais il serait utile d'en reprendre l'étude.* Les Myxomycètes et les Oomycètes (Phycomycètes) sont généralement dépourvus de chitine, et les Champignons supérieurs dépourvus de cellulose. Prenant ces faits comme point de départ, Wettstein a distingué deux séries parmi les champignons inférieurs :

1. Les Monoblépharidées, les Oomycètes (Phycomycètes) à paroi cellulosique et dépourvue de chitine seraient des dérivés récents d'Algues devenues hétérotrophes;
2. Les Zygomycètes, les Synchytridiacées à membrane de chitine seraient au contraire très anciennement différenciés; d'ailleurs on n'observe plus de stade flagellé dans leur développement.

Pour Harder, la séparation en deux groupes, l'un à squelette cellulosique, l'autre à membrane chitineuse n'est pas aussi nettement tranchée dans la réalité. Remarquons d'ailleurs que certaines espèces paraissent à la fois dépourvues de chitine et de cellulose (*Fuligo septica, Saccharomyces cerevisiae* d'après Van Wisselingh).

3. Les hémicelluloses

Les hémicelluloses sont des polyholosides mal définis, distincts chimiquement de la cellulose par leur solubilité dans la soude à 5 % et par leur hydrolyse facile en présence d'acides minéraux étendus bouillants (Schulze). Cette opération libère divers oses : galactose, mannose, glucose, xylose, arabinose, et le plus souvent aussi des acides uroniques. Les glucoxylanes qui engendrent du glucose et du xylose à l'hydrolyse sont généralement associées à l'acide glucuronique; les

arabo-galactanes accompagnent plutôt l'acide galacturonique (NORMAN). La parenté chimique de ces diverses substances peut expliquer leur association (v. p. 35). L'hydrolyse ménagée des hémicelluloses conduit aussi à des composés d'un acide uronique et d'un glucide (acides aldobioniques).

Les propriétés des hémicelluloses sont très variables avec leur composition et encore mal connues; certaines sont solubles dans la liqueur de SCHWEIZER, dans le glycérol à 300° ou dans le mélange de SCHULZE; quelques-unes se colorent en bleu au contact du chlorure de zinc iodé. Un certain nombre précipitent au contact des sels de métaux lourds. La plupart sont lévogyres. Les microorganismes les dégradent facilement, en particulier les Champignons. Il n'existe aucune réaction histochimique générale pour les hémicelluloses.

ANDERSON et NORMAN pensent qu'il existe deux groupes naturels d'hémicelluloses : des polyuronides qui renferment des noyaux uroniques et des polyholosides qui en sont dépourvus.

Chez les Champignons, VOSWINKEL a obtenu du xylose à partir d'échantillons d'*Hydnum repandum*, de *Clavaria*, de *Psalliota*, de Bolets, de Chanterelles. DREYFUSS a extrait d'*Agaricus campestris*, d'*Aspergillus glaucus* et d'un Polypore des glucides insolubles dans les acides dilués, associés à des hémicelluoses facilement hydrolysables. WINTERSTEIN a décrit des hémicelluloses accompagnant la chitine et solubles dans les alcalis dilués chez *Boletus edulis* (paradextrane), *Polyporus betulinus* (paraisodextrane colorable en bleu par l'acide sulfurique iodé) et chez *Pachyma Cocos* (pachymose). Les propriétés du pachymose, hémicellulose du *Pachyma*, avaient été antérieurement signalées par Champion. Elles ont fait l'objet de nouvelles recherches de TAKEDA qui a précisé les propriétés chimiques de plusieurs fractions de glucides extraites du champignon. Dans un *Geaster*, VAN WISSELINGH a découvert une substance qu'il a nommée geastérine, substance colorable en bleu par l'acide sulfurique iodé et soluble dans la glycérine à 300°; il s'agit vraisemblablement d'une hémicellulose. ZANOTTI a décelé du mannose dans les produits d'hydrolyse de *Penicillium glaucum*. BOURQUELOT (2) a reconnu l'apparition de glucose et de mannose après traitement acide de certains constituants du *Lactarius piperatus*. TANRET (2) a extrait à partir de l'ergot, du Champignon de couche, du Polypore officinal et de la levure de bière une glucosane soluble dans les alcalis qu'il a nommée fongose. Dans des champignons lignicoles, WICHERS et TOLLENS ont dosé environ 4 % de pentosanes. DOX et NIEDIG ont reconnu la présence de composés du même groupe dans des thalles d'*Aspergillus* et de *Penicillium* cultivés sur milieu saccharosé (teneur : 1 % environ).

Des observations microscopiques intéressantes ont été faites sur divers Ascomycètes, et particulièrement sur *Aleuria repanda* par SCHUSSNIG et BECKER; elles ont montré la présence dans les asques d'une hémicellulose colorable en bleu ou en vert par l'eau iodée; cette substance manque dans les hyphes; elle est soluble dans l'eau chaude,

la glycérine à 300°, la potasse diluée, l'acide chlorhydrique à 1 %, l'acide sulfurique à 2 %, et insoluble dans l'alcool, l'éther et la liqueur de SCHWEIZER. Cette hémicellulose est associée à la chitine. Pour les auteurs, sa présence dans l'asque pourrait être considérée comme un caractère ancestral indiquant la possibilité d'une filiation de l'asque a partir d'un zoosporange de Thallophyte aquatique.

QUILLET a trouvé des polyholosides dans tous les champignons qu'il a étudiés. Les parois cellulaires d'*Auricularia* et d'*Ithyphallus* renferment respectivement un polyholoside de glucose et un polyholoside de mannose, associé à un peu de chitine et à d'abondants mucilages. D'autres espèces renferment des pentosanes.

Chez les Levures, diverses hémicelluloses ont été étudiées, mais les résultats rapportés par les chercheurs sont discordants. Citons les observations de LIEBERMANN et BITTÓ, de SALKOWSKI qui a isolé une « Hefecellulose » formée de deux constituants, l'un colorable en brun-rouge par l'iode et voisin du glycogène (erythrocellulose), l'autre non colorable (achroocellulose); ces produits donnent essentiellement du glucose par hydrolyse. DREYER a extrait, à l'aide d'un alcali, une gomme qui n'est sans doute pas un constituant primitif de la membrane et il en a isolé une mannodextrane. ZECHMEISTER et TÓTH (1-2) ont repris l'étude des polysaccharides de la levure; ils ont isolé une hexosane insoluble dans l'eau bouillante, non colorable par l'iode ou le chlorure de zinc iodé, insoluble dans la liqueur de SCHWEIZER; son hydrolyse totale fournit du d-glucose. Le traitement de la levure par la pepsine puis par l'amylase permet aussi de préparer cette substance.

Les hémicelluloses jouent donc un rôle important parmi les constituants des membranes dans le groupe des Champignons, mais leur étude chimique est encore insuffisamment avancée.

On peut en rapprocher d'autres substances mal connues : la callose et les amyloïdes dont la présence a été fréquemment signalée; étudions-les successivement.

4. *La callose*

C'est à MANGIN qu'on doit la découverte et le nom de cette substance. Elle est surtout connue par ses propriétés histochimiques car il n'a pas été possible de l'isoler à l'état de corps pur. Toutefois, les expériences d'hydrolyse de MANGIN sur des Polyporées (5) et les observations chimiques d'ARNAUD sur *Bornetina Corium* montrent qu'il s'agit d'un polyholoside analogue à une hémicellulose. MANGIN l'a définie de la manière suivante (7) : « matière amorphe insoluble dans les alcalis, dans les acide étendus, dans le réactif de SCHWEIZER, contractant avec le brome une combinaison qui la rend soluble dans les alcalis étendus; les solutions alcalines ainsi obtenues précipitent par l'acide chlorhydrique une substance visqueuse insoluble. Cette substance, dépourvue d'azote, possède la composition élémentaire de la cellulose et donne, par hydrolyse, du glucose. Distincte de la cellulose et de la chitine par sa destruction rapide dans la glycérine à 300°, elle ne se colore jamais par

les réactifs iodés; par contre, elle se colore par les bleus de triphénylméthane trisulfonés en bain acide (6) et par les couleurs de benzidine en bain alcalin (rouge Congo, Congo brillant, azobleu, azoviolet, rosazurine, benzopurpurine, benzoazurine, etc.) ». Tsvett a conseillé l'emploi du bleu de résorcine. Ces diverses colorations ne sont pas spécifiques; on se souvient que le rouge Congo par exemple a été cité précédemment comme colorant de la cellulose et de la chitine.

L'emploi des réactions précédentes et surtout l'utilisation des colorants ont permis à Mangin d'étudier la répartition de la callose parmi les Champignons; la présence de ce glucide a été reconnue chez de nombreuses espèces, en particulier dans les groupes suivants (Mangin 2-4) :

Péronosporées : *Cystopus, Peronospora*; le mycélium renfermerait de la callose et de la cellulose, les spores de la cellulose seule;

Saprolégniées : *Achlya, Dictyuchus*; la callose serait associée à la cellulose;

Mucoracées : *Mucor, Phycomyces, Rhizopus, Pilobolus, Mortierella, Thamnidium*; la callose n'existerait que dans les membranes des sporanges et des spores; les parois des hyphes seraient formées d'un mélange de cellulose et de composés pectiques;

Basidiomycètes : *Puccinia* (suçoirs), *Corticium, Polyporus, Daedalaea, Coprinus* où la callose serait associée à des composés pectiques;

Ascomycètes : *Bulgaria, Ascobolus, Oidium, Rhytisma, Penicillium, Saccharomyces.*

Chez certains discomycètes, les spores portent des verrues colorables par le bleu lactique (Ex : *Galactinia* d'après Le Gal). Chez nombre d'Ascomycètes, les granules ou les plaques qui garnissent les perforations synaptiques des cloisons intercellulaires prennent aussi ce colorant, notamment dans la base des asques (Ex. : *Pleospora*, selon Chadefaud).

Le champignon le plus riche en callose est *Bornetina Corium*, qui forme une gaîne autour des racines de Vigne atteintes de phtiriose (Mangin et Viala) (7).

Dans certains appareils reproducteurs, la callose peut, à maturité, se dissoudre dans l'eau environnante et permettre la dissociation des conidies (*Cystopus*) ou la libération des spores (*Mucor*). Ce changement de propriétés de la callose, devenant soluble dans l'eau et moins apte à fixer certains colorants, est bien singulier; de nouvelles recherches seraient utiles pour s'assurer que l'évolution de la membrane n'est pas liée à une transformation en glucides plus simples. Mangin pense qu'il s'agit de formes plus ou moins polymérisées d'une *même* substance (7), mais les données expérimentales manquent complètement. Dans les jeunes sporanges de *Mucor Mucedo*, de *Phycomyces*, de *Rhizopus*,... la

---

(6) Le bleu lactique frequemment utilisé en mycologie serait inferieur au bleu coton (C 4 B) au lactophénol qu'on peut d'ailleurs mêler au Soudan III (Langeron).

(7) Pour R. Heim, ce champignon est un Basidiomycète à ranger parmi les Polyporales.

membrane est formée de cellulose associée, comme dans les hyphes, à des composés pectiques; au contraire, à la maturité, ces substances ne sont plus décelables à l'aide des colorants dans les organes de multiplication; l'apparition de la callose pourrait donc être en rapport avec la disparition concomitante de la cellulose et des composés pectiques (Mangin, 6).

Thomas (2) a repris plus récemment l'étude de la callose chez divers *Sclerotinia.* Les hyphes sont constituées chez ces Champignons par une enveloppe externe d'un dérivé de la callose associé à des acides gras et reposant sur une couche de chitine. Par dissolutions et précipitations successives, l'auteur a obtenu un produit presque insoluble dans l'eau, soluble dans la potasse à 1 %, gonflant dans l'ammoniaque, soluble dans la glycérine à 300°, actif sur la lumière polarisée, à caractère acide, précipitable par le sulfate de cuivre et hydrolysable en glucose. Ce glucide serait de la callose et serait présent dans le faux-tissu sous forme d'éther phosphoré. Si l'on compare les propriétés de la substance isolée par Thomas à celles qui définissent la callose selon Mangin, on peut constater qu'à côté de quelques coïncidences (hydrolyse, action de la glycérine), on relève une grave discordance en ce qui concerne l'action des alcalis.

La callose pose donc de nombreux problèmes; est-ce bien une substance définie? dans l'affirmative il faudrait encore répondre à d'autres questions concernant ses propriétés réelles, sa constitution et sa place dans la classification chimique.

5. Les amyloïdes

Les substances qu'on désigne sous ce nom sont caractérisées essentiellement par la réaction amyloïdique dont nous avons signalé plus haut le manque de spécificité. Il est probable que ce groupe de constituants des membranes est très artificiel, et qu'après avoir isolé et étudié un certain nombre d'entre eux on sera conduit à les éloigner les uns des autres au lieu de les rapprocher.

Certains semblent s'apparenter aux hémicelluloses. On a pu en extraire des oses par hydrolyse. Ils gonflent dans l'eau froide et forment dans l'eau bouillante des pseudosolutions précipitables par l'alcool. Leur présence confère souvent aux membranes un éclat nacré et une forte extensibilité [8]. On peut les faire disparaître par séjour prolongé des tissus dans la liqueur de Schweizer, par traitement à la glycérine à 300°. Ziegenspeck les entraîne par chauffage durant une heure dans l'acide sulfurique ou l'acide chlorhydrique dilué (0,5 à 5 %). La coloration bleue par l'eau iodée ou bleuâtre par le réactif de Melzer á été signalée plus haut. Enfin, les membranes amyloïdiques ne fixeraient pas le bleu de Méthylène, l'Hématoxyline, le Rouge de Ruthénium.

---

(8) Chadefaud a noté, chez *Bulgaria*, l'élasticité de la région amyloïdique de l'asque.

L'amyloïde a été rencontrée surtout dans des graines et dans des organes jeunes, là où une extension des membranes est en cours de réalisation; pour ZIEGENSPECK, les membranes cellulosiques pourraient, au cours de leur différenciation, présenter un stade initial amyloïdique. Il semble donc que l'amyloïde joue un rôle important dans les membranes du fait de ses propriétés physiques particulières.

Si l'on caractérise les substances amyloïdiques uniquement par la réaction à l'iode, ce qu'on est bien obligé d'accepter provisoirement, on observe qu'elles sont très fréquentes parmi les Champignons supérieurs.

La paroi des ascospores de *Schizosaccharomyces* renferme de l'amyloïde qui disparaît à la germination après avoir, semble-t-il, joué le rôle de matière de réserve (LINDNER, GUILLIERMOND). Les asques d'*Aleuria, Galactinia, Otidea, Aleuria,* etc., se colorent en bleu par l'eau iodée; cette propriété a trouvé son application dans la classification des Discomycètes par BOUDIER. Chez *Aleuria,* l'asque jeune bleuit suivant une large surface dans la région terminale; plus tard, la coloration se localise suivant un anneau (LOHWAG).

Chez les Basidiomycètes, la réaction amyloïdique a été fréquemment observée depuis ROLLAND. Parmi les Agaricinées leucosporées, certaines espèces ont des spores bleuissant par l'iode, tandis que d'autres restent incolores. On peut séparer par ce procédé des espèces ou des genres voisins; ainsi, les spores sont amyloïdiques chez *Amanita phalloïdes* et chez les Lactaires, tandis que la réaction est négative avec *Amanita pantherina* et *Hygrophorus* (KÜHNER et MAIRE). Les ornements des spores se colorent seuls en bleu par l'eau iodée chez *Rhodopaxillus* et *Lepiota*; dans le genre *Russula,* le réseau ou les verrues noircissent en présence du réactif de MELZER. Dans le groupe des Lactaires, le revêtement amyloïdique des spores, qui serait continu à l'origine, dessine des ornements d'aspect variable à maturité; l'enduit amyloïdique peut être entraîné chez les Lactaires par un traitement à la soude à 4 % (JOSSERAND). Dans les genres *Marasmius* et *Mycena* étudiés par KÜHNER (5), la réaction amyloïdique est typique dans la paroi des spores de certaines espèces, qui se colore en gris bleu (*M. pura*); les hyphes virent au contraire au rougeâtre; cette teinte est localisée dans la région externe des membranes, qui sert de ciment intercellulaire lorsque les filaments sont serrés.

La réaction amyloïdique s'observe donc fréquemment chez les Champignons supérieurs, mais on ignore encore si elle correspond à une ou plusieurs substances définies, ou si elle caractérise un certain état physique sans rapport avec un constituant déterminé. La connaissance de l'amyloïde comme celle de la callose et des hémicelluloses ne pourra faire d'importants progrès que lorsqu'on disposera de quantités importantes de matière. Enfin, certains indices permettent de supposer que ces constituants si mal connus prennent part à l'élaboration de la cellulose, mais dans ce domaine comme ailleurs, nous sommes réduits à proposer des hypothèses sans pouvoir actuellement leur apporter de confirmation.

6. Les composés pectiques

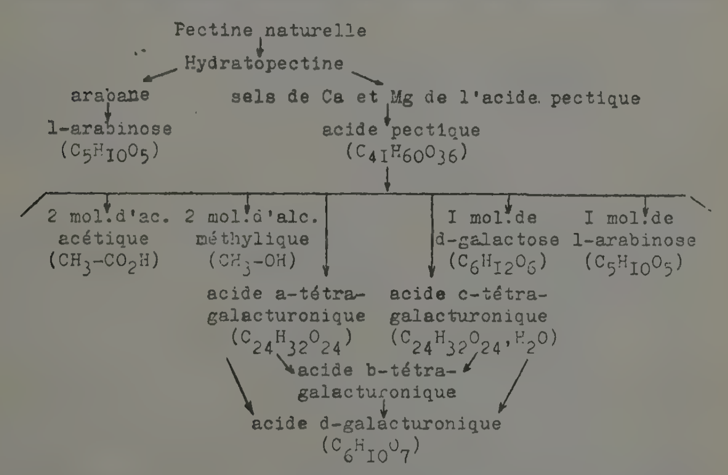
1. Constitution. — Les recherches modernes ont considérablement modifié les notions antérieures dues à BRACONNOT, FRÉMY, BOURQUELOT et HÉRISSEY, etc. On admet encore en général qu'il existe trois groupes de composés pectiques :

a. Les *pectoses* de FRÉMY nommées protopectines par TSCHIRCH et pectines originelles par EHRLICH; elles sont insolubles dans l'eau;

b. les *pectines* qui sont solubles dans l'eau avec laquelle elles forment des gelées en présence du sucre et d'une acidité convenable;

c. les *pectates* qui donnent avec l'eau des gels assez rigides.

Pour EHRLICH et ses collaborateurs, la *pectine insoluble* se transforme par ébullition dans l'eau en *hydratopectine* pseudosoluble. L'alcool à 70° à l'ébullition en séparerait un arabinoholoside soluble dans l'alcool, et le sel calcomagnésien insoluble d'un *acide pectique* très différent de ce que FRÉMY désignait sous le même nom (9). L'acide pectique pur d'EHRLICH est blanc, pseudosoluble dans l'eau avec laquelle il forme une gelée en présence de certains produits (eau de chaux ou de baryte, acétate de plomb, etc.). Cet acide fournirait par hydrolyse cinq corps différents, conformément au schéma ci-dessous :



Les acides tétragalacturoniques constitueraient donc pour EHRLICH le noyau caractéristique des composés pectiques.

Ces conclusions quoique fondées sur un nombre considérable d'ex-

(9) L'acide pectique de FRÉMY est le produit qui prend naissance dans l'action de la potasse, puis de l'acide chlorhydrique sur la pectine; il est insoluble dans l'eau et ne renferme pas d'alcool méthylique combiné (BRIDEL).

périences sont vivement critiquées depuis plusieurs années. Déjà COLIN et M[lle] CHAUDUN avaient rejeté le principe d'une *combinaison* de l'arabane avec le pectate calco-magnésien dans la pectose. HENGLEIN et SCHNEIDER ont, de leur côté, comparé l'acide pectique méthylé avec la cellulose méthylée et leur ont trouvé des propriétés communes. Ils ont également découvert de grandes analogies entre les dérivés nitrés de la pectine et ceux de la cellulose. Ces faits plaident en faveur d'un groupement des restes d'acide galacturonique en longues chaînes, structure analogue à celle de la cellulose que nous avons signalée plus haut. Les formules ci-dessous, empruntées à HENGLEIN, sont très différentes de celles d'EHRLICH, mais l'acide galacturonique reste l'élément fondamental de la molécule de l'acide pectique qui paraît lui-même constituer le noyau de tous les composés pectiques.

Glucose : $C_6H_{12}O_6$ ou $C_5H_9O_5(CH_2OH)$.
Cellulose : $(C_6H_{10}O_5)_n$ ou : $- O - [C_5H_7O_3(CH_2OH)] - O - [C_5H_7O_3(CH_2OH)] - O - [C_5H_7O_3(CH_2OH)] - O - [C_5H_7O_3(CH_2OH)] - O -$

Acide galacturonique : $C_6H_{10}O_7$ ou $C_5H_9O_5(CO_2H)$.
Chaine polygalacturonidique des c. pectiques : $(C_6H_8O_6)_n$ ou : $- O - [C_5H_7O_3(CO_2H)] - O - [C_5H_7O_3(CO_2H)] - O - [C_5H_7O_3(CO_2H)] - O - [C_5H_7O_3(CO_2H)] - O -$

On peut conclure des travaux modernes que les composés pectiques sont des *polyuronides*. Ils se classent donc auprès de la plupart des mucilages et des hémicelluloses, mais ils sont beaucoup plus riches en acides uroniques que ces dernières. Les acides pectiques des membranes seraient soit à l'état de sels de calcium et de magnésium (lamelles moyennes), soit sous forme de dérivés méthylés (pectine ?).

Des diastases ou *pectosinases* peuvent solubiliser la pectose en pectine. Les pectines sont coagulées par la *pectase* de FRÉMY, avec libération d'alcool méthylique, en présence de calcium. Les *pectinases* enfin hydrolysent les pectines avec production d'acides uroniques. De nombreux microorganismes en produisent (*Botrytis*, *Rhizopus*,...).

2. **Principales réactions utilisables en microscopie.** — On a généralement intérêt à faire disparaître des coupes les contenus cellulaires. Les propriétés à vérifier peuvent se classer en trois groupes.

a. Elimination des composés pectiques par macération dans un liquide convenable (VAN WISSELINGH (3), DEVAUX (1-2)) :

1. Traitements successifs par l'acide chlorhydrique et la potasse;
2. Mélange de SCHULZE ($ClO_3K + NO_3H$);
3. Oxalate d'ammonium dilué (0,5 %) pendant 24 à 48 heures;
4. Eaux oxygénée officinale diluée de moitié;
5. Solution de pectinase du malt;
6. Culture de microorganismes du rouissage;
7. Glycérine à 300°.

b. Les composés pectiques résistent à l'action de l'acide chromique à 10 % et ne sont pas dissous par la liqueur de Schweizer.

c. Ils fixent un certain nombre de colorants généralement peu spécifiques : bleu de méthylène en solution aqueuse très diluée, rouge de ruthénium en solution aqueuse neutre ou ammoniacale très diluée, adsorption du bleu de Prusse (Devaux), coloration violette par l'hématoxyline alunée, etc. Le rouge de ruthénium dont l'emploi a été préconisé par Mangin est un colorant des produits uroniques; il se fixe fréquemment sur les gommes, les hémicelluloses et les mucilages. Il peut aussi colorer le noyau et le cytoplasme. Il est bon de l'utiliser avant et après avoir fait agir les solvants des composés pectiques et de la cellulose.

3. Répartition des composés pectiques dans les divers groupes de Champignons. — Mangin (4), utilisant des colorants, a signalé la présence de composés pectiques chez les Urédinées (suçoirs) et dans les membranes de divers *Coprinus* (association à la callose), *Polyporus* et *Daedalea*. Van Wisselingh (3) a observé une réaction positive avec le rouge de ruthénium sur des échantillons appartenant aux genres : *Chlamydomucor, Penicillium, Nectria, Thelephora, Clavaria, Hydnum, Irpex, Lycoperdon, Geaster, Crucibulum, Æcidium, Rœstelia*; la coloration n'était plus possible après traitement des préparations par la glycérine à 300°. Les composés pectiques apparaissent donc surtout dans les membranes des Eumycètes, mais l'étude de leur répartition est encore à peine amorcée et les recherches chimiques manquent totalement.

7. *Les mucilages*

Ce sont comme les gommes des substances insolubles dans l'alcool et dans l'éther, gonflant au contact de l'eau en produisant des gelées. Ils sont constitués par des mélanges complexes, acides ou neutres, pouvant renfermer de la cellulose, des composés pectiques, de la callose, etc. En général, ils ne précipitent pas par addition d'eau de chaux et ne coagulent pas en présence de pectase. L'hydrolyse fournit des produits variables suivant la nature des constituants; on peut obtenir du galactose, de l'arabinose, du glucose, des acides uroniques, des combinaisons de sucres et d'acides uroniques (acides aldobioniques), etc. Les mucilages sont en général des polyuronides acides ou à l'état de sels. D'après Mangin (5 *bis*), ils peuvent être classés en plusieurs groupes : *mucilages pectosiques* comme ceux des Ascomycètes (*Ascobolus, Bulgaria,...*), *cellulosiques, callosiques* comme celui qui forme la paroi du sporange des Mucorinées et les points de contact des conidies des Péronosporées, ou *mixte* (Polypores,..). Chez *Exidia* et *Dacryomyces,* la membrane mucilagineuse est en grande partie dissoute par la glycérine à 300° (Van Wisselingh 2).

La diversité des substances groupées sous le nom de mucilages entraîne l'absence de réactions histochimiques satisfaisantes. En plus

du gonflement caractéristique au contact de l'eau et des caractères de solubilité, on a signalé la coloration par l'orcine chlorhydrique, le rouge de ruthénium, le bleu coton, le rouge neutre en solution alcoolique, l'hématoxyline de Delafield, la coralline en solution chlorhydrique, la coloration bleue par traitements successifs par le sulfate de cuivre à 10 % et la potasse à 10 %, etc. Il est généralement nécessaire de coaguler les mucilages avant de les colorer; on peut utiliser à cet effet le sublimé, l'acétate de plomb, l'alun de potasse ou de chrome. L'acétate de benzidine présente l'avantage de fixer et de colorer simultanément les mucilages (Roques).

Les enduits de consistance mucilagineuse et gonflant à l'humidité sont très fréquents à la surface des membranes des champignons, qu'il s'agisse de spores (Ustilaginées, Urédinées), de cellules de Levures, d'appareils fructifères d'Ascomycètes (Pyrénomycètes, *Bulgaria, Leotia*, etc.), de rhizomorphes (*Armillariella*) ou de nombreux chapeaux d'Hyménomycètes (*Omphalia, Crépidotus, Collybia, Cortinarius,...*). Parfois, le mucilage est suffisamment abondant pour rendre le champignon tout entier mou et tremblotant (Trémellinées); les basides sont logées à l'intérieur même de la gelée chez les Trémelles, les Auricularíées, les Dacryomycétées, etc. Certains *Gymnosporangium*, les *Phallées* sont également très riches en produits mucilagineux. Lorsque l'enduit gélatineux est fortement hydraté, on y observe souvent une stratification. Après une période de sécheresse, le mucilage contracté prend une forme irrégulière, une consistance cornée et un aspect luisant.

C'est surtout par l'observation grossière et le simple contact des Champignons qu'on est parvenu à l'idée de la grande extension des mucilages dans cette classe de végétaux, mais les connaissances précises fondées sur l'analyse chimique ou l'examen microscopique sont extrêmement rares. Dans son livre sur les Champignons, Boudier rapporte qu'il a extrait de la surface du chapeau d'*Amanita citrina* un mucilage qu'il nomme *viscosine*; on peut le préparer en isolant la pellicule et la traitant par l'eau; l'extrait, bouilli et filtré, fournit la viscosine par précipitation sous l'action de l'alcool ou du sous-acétate de plomb; la même substance a été retrouvée par l'auteur chez *Amanita muscaria* et *Boletus edulis*.

Quillet a publié récemment un important travail de chimie sur les mucilages d'*Auricularia mesenterica*, de *Tremella mesenterica* et *d'Ithyphallus impudicus*. Le mucilage d'*Auricularia* représente 45 % du poids du thalle; il comprend une fraction entraînable par l'alcool faible et une autre par l'eau. Toutes deux sont neutres, riches en mannose, et renferment en outre un noyau uronique et de l'arabinose. Dans la matière vivante, la substance mère du mucilage serait sous la forme d'un composé manno-arabino-uronique, associé à de la chitine et à une hémicellulose. La richesse du mucilage en arabinose et en acide uronique augmente avec l'âge. Le mucilage de *Tremella* est très voisin du précédent. Ces deux produits rappellent les mucilages des plantes su-

périeures : ce sont des *polyuronides*. Le mucilage de la volve d'*Ithyphallus* gonfle au contact de l'eau et précipite ensuite par l'alcool fort. Le produit purifié (*phalline*) est lévogyre, acide, et coagulable par les sels de plomb. L'hydrolyse acide fournit *exclusivement* de l'acide glucuronique. Ce mucilage s'éloigne donc des deux précédents; c'est un *acide polyuronique* comme l'algine des Algues brunes. QUILLET a proposé pour ce mucilage d'un type nouveau une formule comportant un cycle tétraglucuronique qui rappelle le schéma donné par EHRLICH pour l'acide tétragalacturonique. Les membranes d'*Ithyphallus* renferment en outre une hémicellulose (mannane) et de la chitine. A la maturation des spores, la gelée et les membranes se liquéfient sous l'action de ferments solubles, et du mannose et de l'acide uronique sont libérés.

QUILLET a étudié plus sommairement d'autres Champignons supérieurs; tous renfermaient des acides uroniques (espèces des genres *Clitocybe, Armillaria, Lepiota, Amanita, Fistulina, Fomes, Bulgaria* et *Guepinia*).

L'étude microscopique du mucilage a été réalisée chez les Atichiacées par MANGIN et PATOUILLARD; chez ces Ascomycètes inférieurs, la membrane est formée de callose dans certaines régions du thalle; les parties mucilagineuses donnent par contre les réactions des composés pectiques et de l'amyloïde. KÜHNER a décrit la gélification des parois chez les Mycènes, dans la région apicale de certaines cystides; il se forme un manchon mucilagineux soluble dans l'eau, dans lequel les spores peuvent s'engluer et où peuvent se rencontrer des gouttelettes de substances étrangères.

8. La lignine

Constitution. — La lignification des membranes est un phénomène très mal connu lié à l'apparition, au sein d'une membrane pecto-cellulosique initiale, de nouveaux constituants qui lui confèrent une rigidité et une dureté caractéristiques. Les *lignines originelles* effectivement présentes dans les membranes sont des matières colloïdales non glucidiques qui présentent certaines réactions colorées considérées comme caractéristiques. Elles résistent aux acides forts et aux solvants mais sont attaquées par les alcalis, le gaz sulfureux et les sulfites. Les lignines plus ou moins altérées extraites par les méthodes chimiques sont des poudres brunes insolubles dans l'eau, le benzène et l'éther, solubles dans le phénol, et réductrices (DUPONT). Parmi les produits extraits des membranes lignifiées, citons des phénols tels que la vanilline et son dérivé glucosidique la coniférine, la pyrocatéchine, le furfurol et le méthylfurfurol, des glucides (xyloholosides, mannoholosides, galactoholosides), des aldéhydes, des substances minérales (phosphates), etc. La distillation industrielle du bois fournit comme on sait de l'acide acétique, de l'acétone, de l'alcool méthylique qui résultent de la présence de groupements acétyle ($—CO—CH^3$) et méthoxyle ($—O—CH^3$)

dans la formule de la lignine. Bertrand et Brooks ont montré récemment la présence de méthanol sous forme d'ester hydrolysable par la baryte dans les tissus lignifiés. Bertrand a également prouvé que ceux-ci renferment de l'acide acétique combiné lui aussi sous forme d'ester.

Aucune des formules proposées pour la lignine n'est certaine; il existe d'ailleurs sans doute de multiples lignines : ainsi celles du Pin et du Hêtre diffèrent notablement. Il n'est pas sûr que les modifications physiques caractéristiques de la lignification soient dues à l'apparition d'une substance nouvelle unique. On ignore en outre si la lignine est seulement mêlée aux constituants initiaux de la membrane (cellulose, composés pectiques), combinée à eux ou adsorbée par leurs micelles.

Pour Bertrand, le bois renferme quatre constituants fondamentaux: xylane, lignol, vasculose et cellulose. Les méthodes d'extraction de la lignine altèrent toujours sa constitution et son état physique. D'après une mise au point de Freudenberg, ce serait une substance aromatique, amorphe, plus ou moins colorée et de masse moléculaire élevée; on en a préparé des dérivés acétylés, benzoylés, méthylés et sulfonés. La lignine correspondrait à l'éthérification et à la condensation des noyaux suivants, où la lettre R des schémas I, II et III correspond à l'un des groupements 4, 5 ou 6; ce serait donc un dérivé du phénylpropane (Freudenberg).

H^2-C-OH	H-CO	CH^3
H-C-OH	CH^2	CO
H-C-OH	H-C-OH	H-COH
R	R	R
(I)	(II)	(III)

OCH_3 — OH — 4

O — O $-CH_2$ — 5

CH_3-O — O-CH_3 — OH — 6

La lignine offre une grande résistance aux attaques des microorganismes.

Caractères microscopiques. — Malgré l'ignorance où nous sommes réduits quant à la constitution chimique des membranes lignifiées, de nombreuses réactions ont été proposées pour mettre en évidence le bois dans les préparations microscopiques. On peut les classer en trois groupes :

1. Résistance à la liqueur de Schweizer et à l'acide sulfurique concentré froid qui dissout la cellulose et les polyuronides;

2. Attaque par le bisulfite de soude, la liqueur de Schulze, la potasse concentrée à 150°, l'eau de Javel (action prolongée), l'acide chromique à 50 % (action lente);

3. Réactions colorées accompagnées ou non de modifications chimiques : coloration par la phloroglucine chlorhydrique et le sulfate d'aniline sulfurique; réactions de Mäule et de Combes; coloration par le violet neutre très dilué (Friesen), la safranine, etc. Le vert d'iode

et la fuchsine ammoniacale quoique fréquemment employés n'ont aucune spécificité. Ils se fixent sur les membranes lignifiées, subérifiées, cutinisées, et même sur des membranes délignifiées par suite d'un traitement chimique approprié.

Répartition de la lignine chez les Champignons. — La présence de membranes lignifiées chez les Champignons est encore incertaine. On parle souvent d'espèces ligneuses pour exprimer une certaine consistance du thalle et sans avoir examiné les réactions des parois des hyphes.

SCHELLENBERG a signalé la lignine dans un *Penicillium*. HARZ l'a recherchée en appliquant la réaction de la phloroglucine et celle du sulfate d'aniline à de nombreuses espèces; il n'a généralement obtenu que des résultats négatifs (*Mucor, Agaricus, Amanita, Marasmius, Lactarius, Polyporus, Merulius, Aspergillus, Penicillium, Tuber, Torula, Claviceps*). Cependant, des colorations caractéristiques ont été constatées dans les membranes d'*Elaphomyces* et dans le capillitium de certains *Bovista, B. nigrescens* notamment; il s'agirait peut-être, d'après l'auteur, d'une lignine plus fragile que celle des végétaux supérieurs (« Fungolignin »).

MANGIN (5) compare à la lignine les substances brunes incrustant le mycélium des Polypores; elles seraient associées à la callose.

SCHAEDE a observé une lignification très localisée des hyphes du champignon des tubercules radicaux de *Myrica*, au contact des membranes lignifiées de l'hôte.

Pour THOM et PHILLIPS, dont les recherches macrochimiques sont plus récentes, la lignine existerait bien chez certains champignons, en particulier chez des espèces de couleur sombre : *Cladosporium, Alternaria, Trametes pini, Fomes igniarius.*

L'étude de la répartition de la lignine est, on le voit, encore fort peu avancée.

9. Le liège

La paroi des cellules du liège typique a été bien décrite, en particulier par SANIO et VAN WISSELINGH (1); on y observe une lignification de la membrane pecto-cellulosique originelle et l'apparition, au contact du cytoplasme, d'une fine lamelle de subérine. La membrane en cours de subérification brunit, devient acide et imperméable; il s'y accumule fréquemment des tanoïdes et le contenu cellulaire meurt généralement; à l'intérieur de la lamelle subéreuse peut se déposer tardivement une couche de cellulose.

La subérine est un mélange caractérisé par la présence d'acides gras particuliers (acides subérogéniques) tels que l'*acide phellonique* ($C_{22}H_{42}O_3$) qui se colore en violet (comme aussi son sel de potassium) au contact du chlorure de zinc iodé, l'*acide phloionique*, l'*acide subéri-*

nique (C_{10} H_{37} O_3). On ne sait pas exactement sous quelle forme se trouvent ces acides au sein de la membrane. La glycérine paraît absente. Les acides sont peut-être polymérisés ou combinés à la cellulose (cf. GUILLEMONAT).

Principales réactions microscopiques. — Il y a intérêt à opérer sur des coupes vidées à l'eau de Javel pour éliminer les tanoïdes.

1. La potasse concentrée (à 50 %) agit à chaud en déterminant l'apparition de boules et de masses granuleuses jaunes de phellonate de potasse, colorables par le chlorure de zinc iodé (Réaction de VON HÖHNEL).
2. Le chlorate de potasse en présence d'acide azotique (réactif de SCHULZE) fait apparaître à chaud des globules facilement fusibles, solubles dans l'éther et le chloroforme.
3. La glycérine à 300° détruit le liège (Réaction de VAN WISSELINGH).
4. L'acide chromique concentré (50 %) détruit à froid tous les éléments d'une coupe végétale sauf le liège et la cutine.
5. L'acide sulfurique concentré a la même action.
6. Le liège est colorable par l'acide osmique, le soudan III, la cyanine, le bleu d'indophénol, le chlorure de zinc iodé (coloration brune), la chlorophylle en solution, mais ces teintures ne sont pas spécifiques.

Répartition du liège chez les Champignons. — Dans les rhizomorphes d'*Armillariella,* les sclérotes de Coprins, les membranes sont épaisses et résistent aux agents chimiques; la *sclérose* qu'elles ont subie semble très proche de la subérification.

Chez *Lenzites quercina,* RICHTER a observé une espèce de subérification des membranes, mais VAN WISSELINGH (2) n'a pas pu vérifier la réaction caractéristique de la subérine en présence du mélange de Schulze. MANGIN (4) a signalé qu'une substance voisine du liège incruste les membranes de Polypores, de Lenzites et de certains *Trametes.*

La question de la répartition du liège est donc à reprendre, en particulier chez les champignons dont la consistance rappelle celle des bouchons.

10. Les corps gras

Les graisses véritables (glycérides) sont des esters de la glycérine et d'acides organiques de la série grasse. Elles peuvent former des enduits à la surface des membranes ou se trouver au sein de la paroi en mélange avec d'autres constituants, des acides gras par exemple (THOMAS). On les reconnaît à leurs propriétés : solubilité dans l'éther, le sulfure de carbone, l'alcool fort bouillant, saponification par la potasse avec apparition de cristaux de savons, coloration par l'acide osmique, le soudan III et le noir soudan, ces deux derniers en solution dans l'alcool

à 70°. Rappelons que la coloration par le soudan n'est pas spécifique car elle s'observe aussi avec les essences, les résines, les cires, le liège et la cutine.

La présence de corps gras neutres ou d'acides gras gêne parfois considérablement les observations microscopiques; on peut les éliminer par traitement à la potasse alcoolique.

Des enduits gras ont été signalés chez les Champignons par Fayod (cystides de *Dermocybe*), par Topin (cystides de *Collybia conigena*), par Thomas (membranes des hyphes de *Fusarium* et de *Sclerotinia*), par Smith (*Geaster* africains).

11. Les résines

Les substances résineuses constituent un groupe chimiquement très hétérogène et caractérisé surtout par un ensemble de propriétés dont aucune prise isolément n'est spécifique. Tschirch a défini les résines de la manière suivante : elles sont adhérentes (ni grasses, ni élastiques, ni gommeuses au toucher), insolubles dans l'eau, solubles au moins partiellement dans l'alcool et l'éther sous forme de solutions visqueuses laissant une laque après évaporation, parfois capables de fournir des savons avec les alcalis, imputrescibles, résistantes à l'égard des réactifs chimiques; elles ne rancissent pas à l'air.

Les sécrétions résineuses sont souvent des mélanges complexes où la résine proprement dite peut être associée à des essences, des gommes, des albumines, etc.

Parmi les propriétés utilisables dans les recherches de microscopie, citons : la solubilité, la coloration par le soudan III, l'acide osmique et l'alcanna acétique. En présence d'acides résiniques, la réaction de Franchimont peut réussir sur coupes : au bout de plusieurs semaines il apparaît, au contact d'une solution d'acétate de cuivre, des cristaux de résinate vert émeraude.

Des résines ont été signalées dans les membranes d'un *Chaetomium* par Zopf, dans le périthèce d'*Eurotium*, dans le revêtement luisant de certaines Polyporées (*Ganoderma, Ungulina pinicola*) et chez certains Ascomycètes (d'après Lohwag). Harz a décrit les granulations résineuses des membranes du Polypore officinal et les a vu s'unir progressivement pour former finalement un revêtement continu (d'après Zopf). L'emploi de méthodes macrochimiques a permis à Pontillon d'extraire une résine du *Sterigmatocystis nigra*. Certaines résines de Champignons ont été étudiées du point de vue chimique, en particulier celles de *Polyporus officinalis* qui renferme de l'acide agaricinique isolé par Fleury, celles de *Lentinus squamosus*, de *Nematoloma* (*Hypholoma*) *fasciculare*, de *Polyporus confluens* et d'*Ungulina pinicola* (Tschirch et Stock). Des résines colorées se rencontrent chez *Nectria cinnabarina* (rouges), *Xanthochrous hispidus* (brunes)... La répartition des résines

chez les Champignons est encore, on le voit, très imparfaitement connue.

12. Matières albuminoïdes

Nous noterons sur ce point les seuls résultats de Wettstein, car les albumines paraissent très rares dans les membranes des Champignons. C'est chez les Myxomycètes que ce savant a vérifié des propriétés classiques des albumines : réaction xanthoprotéique, réaction de Millon, réaction de la cystine (action de la potasse en présence d'acétate de plomb). Les Myxomycètes se singularisent donc parmi les Champignons par la présence de protides ayant des caractères de kératines; on les rencontre dans le capillitium, dans la paroi des spores et dans celle des kystes.

13. Les pigments des membranes

Les hyphes de consistance scléreuse sont souvent de couleur brune ou noirâtre; cette coloration est fréquemment accompagnée d'une augmentation de résistance des membranes à l'action de l'acide sulfurique; on a attribué celle-ci tantôt à une subérification, tantôt à l'apparition de phytomélane. Ce pigment n'existerait pas en réalité dans les hyphes d'après les observations de Senft; il s'agirait plutôt de produits d'humification des membranes.

Les couleurs vives sont fréquentes chez les Champignons; elles résultent de la présence de pigments localisés soit à l'intérieur des cellules (*Russula, Cantharellus, Amanita*,...), soit dans les membranes soit à la surface de celles-ci (Kühner 3). Dans ces deux derniers cas, la paroi cellulaire peut être uniformément colorée; il arrive aussi qu'elle porte seulement des taches pigmentaires, qui résultent peut-être d'une fragmentation d'un enduit coloré primitivement continu (Cortinaires, Inocybes, Hébélomes). Les pigments des membranes sont généralement roussâtres, brunâtres ou noirâtres; on en rencontre cependant de couleur jaune vif (*Stropharia*) ou bleue (*Stropharia aeruginosa*). Ils sont d'ordinaire insolubles dans l'eau, l'alcool et l'ammoniaque au contact de laquelle ils peuvent virer légèrement. D'après Kühner à qui ces données sont empruntées, la localisation des pigments pourrait fournir dans certains cas difficiles, des éléments précis pour la détermination; ainsi, *Lepiota fulvella* et *L. ignicolor*, très voisines, possèdent la première un pigment vacuolaire, la seconde un pigment de membrane. Il est intéressant de rapprocher de ces observations celles de M. R. Heim dont nous extrayons les faits suivants : les pigments membranaires sont fréquents chez les Agaricinées chromosporées, tandis que les pigments vacuolaires dominent chez les rhodo et leucosporées; la coloration est généralement due aux membranes chez les Lactaires et aux vacuoles chez les Russules; enfin la localisation du pigment n'est pas un caractère fixe, car on peut la modifier chez une espèce donnée en variant les conditions de culture. L'enduit pig-

mentaire des membranes de certaines spores est d'ailleurs d'origine vacuolaire (*Ascobolus;* CHADEFAUD (2), M. LE GAL (2).

Certains de ces pigments ont été très anciennement étudiés au point de vue de leurs propriétés chimiques et physiques (solubilité, absorption de la lumière, etc.); on peut trouver une mise au point des recherches anciennes dans le travail de ZELLNER. Parmi les pigments de membranes dont traite l'auteur, relevons ceux des Hygrophores (rouges), des Russules (rouges), de l'ergot (violet), de *Peziza aeruginosa* (vert), etc. On doit d'importantes recherches récentes sur les pigments des champignons à KÖGL et à ses collaborateurs. Nous nous garderons d'insister sur cette question qui a été traitée d'une manière très complète dans cette Revue par PASTAC.

14. Les sels de Calcium

L'oxalate et le carbonate de calcium ont été observés à la surface des membranes de divers Champignons.

L'oxalate s'y présente en cristaux tantôt simples, tantôt mâclés, insolubles dans l'eau, l'alcool et l'éther, dans l'acide acétique (différence avec le carbonate et le phosphate de calcium), mais solubles sans effervescence dans l'acide chlorhydrique et l'acide azotique dilués. L'acide sulfurique étendu les dissout également et peut faire apparaître, si la concentration est convenable, un amas cristallin de sulfate de calcium.

L'oxalate de calcium est très fréquent chez les Champignons, mais sa localisation, son abondance, son aspect varient d'une espèce à une autre et même avec l'âge des organes observés. Il forme de minuscules aiguilles à la surface des sporanges de Mucorinées; ces incrustations sont très anciennement connues; MANGIN (6) a montré qu'on peut les colorer par le vert d'anthracène en solution ammoniacale. L'emploi de cette technique montre que les dépôts sont très variables avec les régions du thalle et avec les espèces; ils manquent complètement dans le genre *Syncephalis*. Chez les Mucors, la disposition et l'abondance des concrétions varient avec les conditions de culture (MANGIN). Chez les Hyménomycètes, TOPIN a fréquemment rencontré l'oxalate de calcium à l'intérieur des cellules ou à la surface des membranes; dans le premier cas, il cristallise généralement en octaèdres, dans le second, il affecte plutôt la forme de prismes ou de tables rhombiques; on peut enfin rencontrer des cristaux au sein même de la paroi cellulaire (*Russula lepida*). Les basides portent rarement de l'oxalate à leur surface; on en observe au contraire fréquemment à la surface des hyphes (*Clitocybe geotropa, Pleurotus striatus, Dochmiopus sphaerosporus*) et surtout sur la face externe des membranes des cystides. Dans ce cas, le revêtement cristallin peut être localisé à l'extrémité de la cellule (*Inocybe*), en éléments épars (*Mycena pura*), ou disposé en manchon (*Gomphidius*). Ces cristaux ont pris naissance dans une solution issue du contenu cellulaire; cette importante production d'oxalate par les

			CHITINE	CELLULOSE	Hémicelluloses
Myxomycètes			⊙ (sauf *Stemonitis*) Ci	⊕ (sauf *Fuligo*) V. W	
Plasmodiophoracées			+		
Synchytriacées			+	○	
Oomycètes		Monoblépharidacées	⊙	⊕	
		Saprolégniacées	⊙ (sauf *Pythium*)	⊕	
		Péronosporacées	⊙	⊕	
Zygomycètes		Mucoracées	⊕	+ (D. B. : Ma.)	
		Entomophtoracées	+ (*Empusa*)	○	
Ascomycètes		Atichiacées			
		Endomycétacées	+		
		Saccharomycétacées	⊙	○	+
		Exoascées	+		
		Périsporiacées	+	+ (D. B.) *Penicillium*	+ (*Aspergillus, Penicillium*)
		Myriangiacées			
		Pyrénomycétacées	⊕	○ (Ergot)	+ (Ergot) Ta
		Discomycétacées	⊕	+ (*Botrytis*) V. W	+ *Bulgaria, Plicaria*
		Tubéracées	+ (*Elaphomyces*)		
		Laboulbéniacées	⊙ (Wett)		
Basidiomycètes	Proto basidiomycètes	Urédinées	+	rare* (Ma)	
		Ustilaginées	+	○	
		Auriculariées	+		+
		Trémellées	+		+
	Auto-basidiomycètes	Hetérobasidiés			
		Homobasidiés	⊕	⊙	+

+ présence signalée ; ⊕ présence considérée comme constante
○ absence » ; ⊙ absence » » générale

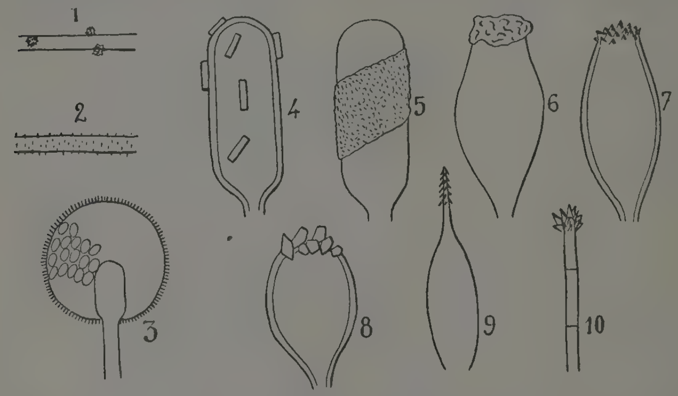
CALLOSE	AMYLOIDES	PECTIQUES	MUCILAGES	LIGNINE	SELS DE Ca
…………	…………	…………	…………	…………	+ CO^3 Ca chez *Physarées* Didymiées Spumariées
… + …	…………	… ○			
… ⊕ …	…………	… ○			
… ⊕ … (sporanges, spores)	…………	… + …	…………	… ⊙ …	… + oxalate, sporanges
… + …	… + …	… + …	.. +		
… + …	… + … (*Schizosacchar.*)	…………	… + …	… ○	
… + … (*Penicillium*)	…………	… + … (*Penicillium*)	…………	… ○	
…………	…………	…………	…………	. . + (*Cladosporium*, *Alternaria*, Th.)	
…………	…………	… + .. (*Nectria*) V. W.	… + …	… ○	
… + …	… + … (asques)	…………	… +		
…………	…………	…………	…………	… + (*Elaphomyces*) H.	
… + …	…………	… + …	… + (*Gymnosporangium*)		
…………	…………	…………	… +		
…………	…………	…………	… ⊕		
…………	…………	…………	… ⊕		
…………	…………	…………	… ⊕ (*Calocera*, *Dacryomyces*)		
… + … (Polyporées, Ma)	. + ou ○ .	… + …	… ⊕ …	… ○ … sauf *Bovista* (H.) *Trametes* *Fomes* (Th.),	+ ou ○

Ci : Cihlar
V.W. : Van Wisselingh
H. : Harz

D. B. : De Bary
Ma : Mangin
Wett : Wettstein

Th : Thom et Phillips
Ta : Tanret

cystides représente un cas particulier de l'activité sécrétoire caractéristique de ce type de cellules. Dans la figure ci-dessous ont été groupés quelques aspects de dépôts cristallins d'oxalate de calcium à la surface des membranes.



Dépôts d'oxalate de chaux

1. hyphe de *Mutinus caninus;* 2. hyphe d'*Agaricus campestris;* 3. sporange de *Mucor Mucedo;* 4. cystide de *Mycena pura;* 5. cystide de *Gomphidius;* 6. cystide de *Collybia conigena;* 7. cystide d'*Inocybe;* 8. cystide de *Coriolus abietinus;* 9. cystide de *Melanoleuca;* 10. poil de périthèce de *Dasyscypha* (Discomycètes). 1 et 2 d'après De Bary; 4, 6 et 8, d'après Topin; 5, 7 et 9, d'après Maublanc; 10, d'après Le Gal.

Le carbonate de chaux est beaucoup plus rare que l'oxalate; il s'en distingue par sa propriété de disparaître en présence d'acide acétique dilué en dégageant des bulles de gaz carbonique. On l'a signalé sous forme de mâcles ou de grains chez certains Myxomycètes.

Parmi les substances présentes dans les membranes et dont l'étude a fait l'objet des paragraphes précédents, un grand nombre sont encore mal connues. Les lacunes relatives à leur répartition dans les grands groupes de Champignons apparaîtront plus clairement si l'on dresse un tableau des résultats qu'on peut considérer comme les moins contestables. Nous y avons fait abstraction de certaines substances à peine signalées dans les membranes, telles que les albumines, le liège, etc. Les colonnes les plus intéressantes sont celles qui correspondent à la chitine, à la cellulose, aux composés pectiques et à la callose. La composition singulière de *Plasmodiophora*, de *Synchytrium*, des Saccharomycètes et des Laboulbéniacées, par rapport à la constitution chimique des groupes considérés comme voisins dans la classification habituelle, apparaît nettement. Des conséquences pourraient en être déduites du point de vue systématique, en rapprochant ces faits de caractères tirés de la morphologie et de la reproduction.

CHAPITRE II

RÉPARTITION DES CONSTITUANTS PRÉCÉDENTS DANS L'ÉPAISSEUR DES MEMBRANES

La paroi cellulaire n'est pas toujours homogène suivant son épaisseur; les membranes minces sont souvent de structure simple, mais en s'épaississant, elles ont tendance à devenir stratifiées. Les stries limitent les couches successivement déposées à l'intérieur de la lamelle primitive, ou résultent seulement de déformations purement physiques (membranes mucilagineuses). Des différences d'aspect, de réfringence, de composition et de propriétés chimiques au sein même de la paroi peuvent traduire son hétérogénéité. On rencontre des membranes épaisses dans les faux-sclérenchymes, dans les hyphes de nombreux Polypores, dans des cystides, des rhizomorphes, des filaments de capillitium, autour des œufs et des spores. La stratification n'apparaît parfois nettement qu'à la suite d'un traitement par certains réactifs (potasse, liquide de Schulze, acide sulfurique, acide azotique...). Examinons quelques exemples de membranes complexes empruntés d'abord aux Champignons inférieurs.

Chez les Mucoracées, MANGIN (6) a observé que les couches extérieures des parois sont particulièrement riches en pectiques et les couches internes surtout cellulosiques. La plus grande complexité s'observe dans l'enveloppe des zygospores; la mince couche extérieure est formée de cellulose et de composés pectiques, l'« épispore » sculptée, de cellulose et d'albumines, l'« endospore » épaisse et réfringente, de cellulose; la callose manque complètement. VUILLEMIN a décrit dans la même membrane cinq assises : une couche interne fine et souvent fenêtrée, colorable en brun-rouge par l'iode en présence d'acide sulfurique et en violet par l'hématoxyline, une assise cartilagineuse donnant les réactions de la cellulose après traitement par le mélange de chlorate de potasse et d'acide chlorhydrique, une cuticelle médiane, une assise charbonneuse fragile portant des reliefs variés, enfin une cuticelle externe fenêtrée. Chez certaines Mucoracées, la couche cartilagineuse est double.

Dans le genre *Endogone*, très voisin des Mucoracées, les azygospores possèdent d'épaisses enveloppes stratifiées étudiées par MALENÇON (3).

L'exospore mince, colorable par le Rouge Congo, devient en fin de développement très résistante à l'acide sulfurique concentré. L'endospore hyaline, épaisse, comporte des zones alternativement brillantes et mates; la stratification est accentuée par traitement à l'acide sulfurique, et la membrane est ensuite colorable en rouge vineux par l'iode; cette coque serait cellulosique et pourrait jouer le rôle de réserve glucidique.

THOMAS a distingué dans les filaments de *Sclerotinia* une enveloppe de chitine, recouverte d'un mélange contenant un dérivé phosphoré de la callose et des acides gras.

Chez certains *Tilletia* étudiés par VAN WISSELINGH (2), les spores ont des membranes comportant trois couches successives; la plus interne est colorable en violet sombre par l'acide sulfurique iodé après traitement par la potasse à 160° (présence de chitine); la couche moyenne devient jaune et l'externe reste incolore dans les mêmes conditions.

COLEMAN a étudié comparativement l'épi- et l'endospore de *Ganoderma*; il a décelé dans l'épispore une hémicellulose et un mucilage capable de fixer la spore au point de chute; l'endospore est chitineuse.

Dans les genres *Mycena* et *Marasmius*, le réactif de Melzer et le bleu de crésyle permettent de discerner deux couches distinctes dans les hyphes, car ils se fixent, l'un sur les constituants superficiels, l'autre sur la région profonde de la paroi (KÜHNER (5)).

Chez les végétaux supérieurs, il existe entre les cellules un ciment pectique qu'on ne retrouve pas d'ordinaire entre les hyphes des Champignons. Toutefois, VAN WISSELINGH a découvert un enduit analogue, fixant de même le rouge de ruthénium, autour des filaments d'un lichen (*Collema pulposum*) (2). Chez certains Pyrénomycètes, la région mitoyenne des membranes présente une grande aptitude au gonflement; le fait s'observe avec netteté dans le groupe des Atichiales où ARNAUD l'a décrit sous le nom de *seuratisation*.

Les exemples ci-dessus, relevés parmi les innombrables travaux descriptifs, prouvent l'hétérogénéité des membranes fongiques suivant leur épaisseur. Cette disposition complique encore une constitution déjà très difficile à analyser du fait de la présence possible, en un point déterminé, de mélanges de plusieurs constituants capables de se masquer les uns les autres. Seul l'emploi de réactions histochimiques sûres et sensibles permettra d'analyser de telles membranes.

CHAPITRE III

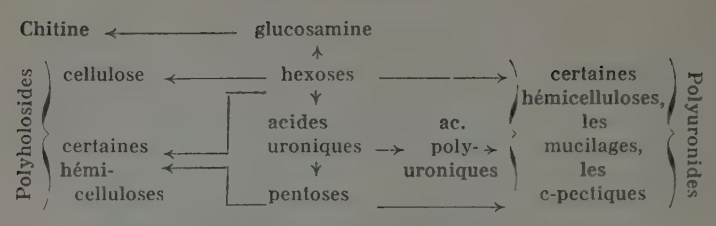
ÉVOLUTION CHIMIQUE DES MEMBRANES AU COURS DE LEUR DIFFÉRENCIATION

La différenciation des membranes a été suivie sous le microscope pour de nombreuses espèces; les auteurs ont cherché à préciser le mode d'apparition des diverses strates succédant, dans les organes complexes, à la fine enveloppe homogène de la cellule jeune. Du point de vue morphologique, certains de ces travaux sont très précis; ils pourraient servir de base à des recherches histochimiques; c'est le cas par exemple pour les recherches de MALENÇON sur les spores de *Ciliaria* et d'*Elaphomyces,* mais l'insuffisance des techniques actuelles rend de tels travaux extrêmement délicats.

L'origine des substances fondamentales des membranes est inconnue. La chitine, la cellulose, les hémicelluloses, les composés pectiques, les mucilages dérivent vraisemblablement de sucres simples (oses) issus du contenu cellulaire. Ces glucides se polymériseraient en substances complexes, souvent insolubles, s'accumulant à la limite membrane-cytoplasme. La condensation peut être faible et des hémicelluloses apparaissent (membranes callosiques, amyloïdes?...) ; elle peut se poursuivre et aboutir à la cellulose, ou être accompagnée d'une fixation de groupements azotés sur les restes glucidiques initiaux (membranes de chitine). Il n'est pas impossible que des transformations permettent de passer des hémicelluloses à la cellulose ou inversement au cours de la différenciation cellulaire. Les relations des divers glucides entre eux, et avec les acides uroniques ont été figurées ci-dessous, en partie d'après NORMAN.

d-fructose ⇄	d-glucose ⇄	d-mannose ⇄	d-galactose
	↓	↓	↓
	ac. d-glucuronique	ac. d-mannuronique	ac. d-galacturonique
	↓		↓
	d-xylose		d-arabinose

Hexoses, acides uroniques et pentoses



Polyholosides, polyuronides, Chitine

Les lipides sont probablement aussi d'origine glucidique, ainsi que l'acide oxalique. L'origine du liège est très mal connue. Enfin il intervient probablement dans la lignification des modifications des composés pectiques (Dauphiné, Bertrand et Brooks...).

Il est bien évident que pour décrire les transformations chimiques des membranes dans le temps, il faudrait être capable d'en faire une analyse précise à un stade quelconque de leur évolution. Les chapitres précédents ont suffisamment prouvé que les faits actuellement connus ne permettent pas d'y parvenir.

CONCLUSIONS

Pour conclure, nous résumerons sommairement les acquisitions essentielles et les lacunes de nos connaissances concernant les membranes fongiques.

I. Les faits acquis.

a. Structure chimique de la chitine, de la cellulose, de certains composés pectiques et de divers pigments et mucilages;
b. Vaste répartition de la chitine dont la présence à faible dose est cependant très importante chez les Champignons. Elle n'existe pas dans tous les groupes; elle est caractéristique des Plasmodiophoracées, Synchytriacées, de nombreux Zygomycètes, des Endomycétacées, de la plupart des Ascomycètes et des Basidiomycètes;
c. Répartition moins étendue de la cellulose, qui ne paraît jamais associée à la chitine; elle est caractéristique des Myxomycètes et des Oomycètes;
d. Présence exceptionnelle de la lignine et de la subérine, si fréquentes chez les végétaux supérieurs;
e. Fréquence de la callose, particulièrement dans les groupes inférieurs;
f. Importance probable des hémicelluloses, dont la répartition et la constitution restent à préciser;
g. Fréquence des mucilages et, plus généralement, des dérivés uroniques;
h. Répartition sporadique des composés pectiques, des sels de calcium, des résines, etc.
i. Présence singulière de protides voisins des kératines chez les Myxomycètes;
j. Parmi les groupes où on les classe communément, les Plasmodiophoracées, les Synchytriacées, les Saccharomycétacées, les Laboulbéniacées se singularisent par la composition chimique de leur membrane.

II. Les principales lacunes.

a. Nature chimique de la callose;
b. Signification de la réaction amyloïdique;
c. Insuffisance des techniques histochimiques en ce qui concerne les hémicelluloses, les mucilages, la callose...;
d. Répartition de la subérine, des graisses, des cires;

e. Nature et répartition des enduits mucilagineux;

f. Distribution des constituants chimiques dans l'épaisseur des membranes complexes;

g. Origine et ordre d'apparition des constituants membranaires au cours de la différenciation cellulaire.

BIBLIOGRAPHIE

Arnaud (G.). — Les Astérinées. *Ann. Sc. Nat.*, 1925, S. 10, 7, 710.

De Bary. — Morphologie und Physiologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten. Leipzig, 1866.

Bergmann (M.), Zervas (L.) et Silberkweit (E.). — Uber Chitin und Chitobiose. *Ber. d. deustch. chem. Ges.* 1931, 64, 2.436.

Bertrand (G.). — Composition et méthode d'analyse des tissus végétaux lignifiés. *Ann. Ferm.* 1935-36, 1, 577.

Bertrand (G.) et Brooks (G.). — Sur le méthanol contenu à l'état d'ester dans le bois et dans les tissus lignifiés. *Ann. Ferm.* 1940, 5, 537.

Boudier. — Die Pilze. Berlin, 1867.

Bourquelot (Em.) (1). — Sur la présence de l'amidon dans un champignon appartenant à la famille des Polyporées, le *Boletus pachypus*. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, 1891, 7, 155.

Bourquelot (Em.) (2). — Les hydrates de carbone chez les Champignons. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, 1894, 10, 133.

Braconnot (H.). — Recherches analytiques sur la nature des Champignons. *Ann. de Chimie*, 1811, 79, 265.

Bridel (M.). — Les récents travaux sur la constitution des pectines. *Journ. de Pharm. et Chimie*, 1931, 13, 99.

Brunswik (H.). — Über die Mikrochemie der Chitosanverbindungen. *Biochem. Ztschrift*, 1921, 113, 111.

Chadefaud (M.). — Etudes d'Asques. I. Les asques et les ascospores de *Bulgaria inquinans*. *Rev. mycol.* 1940, 5, 87.

Chadefaud (M.) (2). Etudes d'asques. III. *Bull. Soc. bot. Fr.* 1942, 89, 58.

Champion (P.). — Sur une matière extraite d'un champignon de la Chine. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1872, 75, 1.526.

Cihlar (C.). — Mikrokemijska istrazivan johitin ublinskim membranama, d'après *Bot. Centralbl.* 1916, 131, 524.

Coleman (L.-C.). — Structure of spore wall in *Ganoderma*. *Bot. Gaz.*, 1927, 83, 48.

Colin (H.) et M[lle] Chaudun. — La composition du ciment intercellulaire. *C. R. Ac. Sc. Paris.* 1934, 198, 2116 et 1936, 202, 973.

Colin (H.) et Quillet (M.). — Sur la gelée de l'œuf de *Phallus impudicus*. *C. R. Ac. Sc. Paris.* 1932, 195, 1313.

Combes (R.). — Sur un nouveau groupe de réactions de la lignine et des membranes lignifiées. *Bull. des Sc. pharmacol.* 1906, 13, 293.

COMBES (R.). — La vie de la cellule végétale; l'enveloppe de la matière vivante. Paris (A. Colin), 1937.
DAUPHINÉ (A.). — Sur la localisation de la lignine dans la membrane végétale. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1941, 213, 739.
DEVAUX (H.) (1). — Sur les réactifs colorants des substances pectiques. *Actes Soc. linn. Bordeaux*, 1901, S. 6, 6, pp. 33, 58, 87.
DEVAUX (H.) (2). — Sur la nature de la lamelle moyenne dans les tissus mous. *Mém. Soc. Sc. phys. et nat. de Bordeaux*, 1903, S. 6, 3, 89.
DOX (A. W.) et NEIDIG (R. E.). — Pentosans in lower fungi. *Journ. of biol. Chemistry*, 1911, 9, 267.
DREYER (G.). — Beiträge zur Chemie der Hefe. I. Uber die Natur der Zellmembran. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. II, 1913, 39, 123.
DREYFUSS (I.). — Ueber das Vorkommen von Cellulose in Bacillen, Schimmel und andere Pilze. *Ztschr. f. physiol. Chem.* 1894, 18, 358.
DUPONT (G.). — Etat de nos connaissances sur la chimie de la lignine. *Chimie et industrie*, 1928, 19, 3.
EHRLICH (F.) et KOSMAHLY (Al.). — Uber die Chemie des Pektins der Obstfrüchte. *Biochem. Ztschrift*, 1929, 212, 162.
EHRLICH (F.). — Uber die Pektolase, ein neuaufgefundenes Pektinferment. *Biochem. Ztschr.*, 1932, 250, 525.
FAYOD (V.). — Histoire naturelle des Agaricinées. *Ann. Sc. Nat.*, 1889, S. 7, 9, 190.
FREUDENBERG (K.). — Lignin. *Fortschr. der Chemie org. Naturstoffe*, 1939, 2, 1.
FRIESEN (G.). — Kritische Untersuchungen über den Nachweis von Ligninen in Zellwänden. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 1935, 53, 186.
GÄUMANN et DODGE. — Comparative morphology of Fungi. New-York, 1928.
GILSON (E.) (1). — Recherches chimiques sur la membrane cellulaire des Champignons. *La Cellule*, 1895, 11, 7.
GILSON (E) (2). — Das Chitin und die Membranen der Pilzzellen. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1895, 28, 821,
GILSON (E.) (3). — De la présence de la chitine dans la membrane cellulaire des Champignons. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1895, 120, 1.000.
GUILLEMONAT (A.). — Etat de nos connaissances sur la chimie du liège. *Bull. Soc. chim. Fr.* 1942, 9, 589.
GUILLIERMOND (A.). — Recherches cytologiques sur les levures et quelques moisissures à formes levures. Thèse Sc. Nat. Paris, 1902 (p. 184).
HARZ (C. O.). — Ueber das Vorkommen von Lignin in Pilzen. *Bot. Centralbl.*, 1885, 23, 371.
HARZ (C. O.). — Ueber das Vorkommen von Lignin in Pilzzellenmembranen. *Bot. Centralbl.*, 1886, 25, 386.
HEIM (R.). — Les pigments des champignons dans leurs rapports avec la systématique. *Bull. Soc. Chim. bio.*, 1942, 24, 48.
HENGLEIN (F. A.) et SCHNEIDER (G.). — Uber die Veresterung von Pektinstoffen. *Ber. d. d. chem. Ges.* 1936, 69, 309.
HENGLEIN (F. A.). — Chemie und Technik der Pektine, dans :*Forts-*

chritte der Chemie, Physik und Technik der makromolekularen Stoffe. 1942.

HILPERT (R. S.), BECKER (D.) et ROSSÉE (W.). — Untersuchungen an Flechten, Pilzen und Algen. *Biochem. Ztschr.*, 1936, 289, 179 et 193.

IWANOFF (K. S.). — Uber die Zusammensetzung der Eiweissstoffe und Zellmembranen bei Bakterien und Pilzen. *Chem. Centralbl.*, 1902, 2, 531.

JOHANNES (H.). — Beiträge zur Vitalfärbung von Pilzmyzelien, *Flora,* 1939-40, 134, 58.

JOSSERAND. — Etude sur l'ornementation sporique des Lactaires et de quelques autres espèces à spores amyloïdes. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, 1940, 7, 56.

KARRER (P.) et GÖTZ V. FRANÇOIS. — Ueber den enzymatischen Abbau von Chitin. *Helv. chim. Acta,* 1929, 12, 986.

KHOUVINE (Y.). — Etude aux rayons X de la chitine d'*Aspergillus niger,* de *Psalliota campestris* et d'*Armillaria mellea. C. R. Ac. Sc. Paris,* 1932, 195, 396.

KLEIN (G.). — Handbuch der Pflanzenanalyse. III 1, t. 2, 1932, Vienne (Springer).

KÜHNER (R.) (1). — Utilisation de l'acide sulfurique comme réactif du pigment sporique dans la systématique des Agarics mélanosporés. *Bull. Soc. linn. Lyon,* 1929, p. 8.

KÜHNER (R.) (2). — Utilisation du bleu de crésyl en Mycologie systématique. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1934, 198, 843.

KÜHNER (R.) (3). — Observations sur la localisation cytologique des substances colorées chez les Agarics et les Bolets. *Le Botaniste,* 1934, 26, 347.

KÜHNER (R.) (4). — Sur la réaction à l'iode des parois des hyphes du carpophore de *Mycena. C. R. Ac. Sc. Paris,* 1936, 203, 1.287.

KÜHNER (R.) (5). — Le genre *Mycena.* Encyclopédie mycologique. Lechevalier, Paris, 1938.

KÜHNER (R.) et MAIRE (R.). — Etude de la membrane sporique à l'iode dans les divers genres d'Agarics leucosporés. *Bull. Soc. mycol.* Fr., 1934, 50, 9.

LANGERON. — Précis de Microscopie. Masson, 1942.

LE GAL (M.). — Florule mycologique des bois de la Grange et de l'Etoile. *Rev. mycol.,* 1939, 4, 33.

LE GAL (M.) (2). — Mode de formation des ornementations sporales chez les *Ascobolus. C. R. Ac. Sc. Paris,* 1942, 215, 167.

LIEBERMANN (L.) et BITTO (B. v.). — Ein Beitrag zur Chemie der Hefezellen. *Centralbl. f. Physiol.,* 1893, 7, 857.

LINDNER (P.). — Beobachtungen über die Sporen und Glycogenbildung einiger Hefen auf Würzegelatine. Die Blaufarbung der Sporen von *Schizosaccharomyces octosporus* durch Iodlösung. *Centralbl. f. Bakt.* Abt. II. 1896, 2, 537.

LOHWAG (H.). — Anatomie der Asco-und Basidiomyceten. Linsbauers Handbuch der Pflanzenanatomie. Abt. II. 3, 1941.

LUTZ (L.). — Traité de Cryptogamie. Masson, 1942.
LUTZ (L.) (2). — Sur les ferments solubles sécrétés par les champignons Hyménomycètes. Cytolyse de la cellulose. *C. R. Ac. Sc. Paris.* 1934, 199, 893.
MALENÇON (G.) (1). — Les préliminaires de la germination des spores dans le genre *Elaphomyces. C. R. Ac. Sc., Paris,* 1929, 189, 1008.
MALENÇON (G.) (2). — Observations sur les ornements des spores chez les Champignons. *Arch. de Bot.,* 1929, 3, 121.
MALENÇON (G.) (3). — Etudes de parasitisme mycopathologique. *Rev. mycol.,* 1942, 7, 27.
MANGIN (L.) (1). — Sur la callose, nouvelle substance fondamentale existant dans la membrane. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1890, 110, 644.
MANGIN (L.) (2). — Sur les réactifs colorants des substances fondamentales de la membrane. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1890, 111, 120.
MANGIN (L.) (3). — Désarticulation des conidies des Péronosporées. *Bull. Soc. bot. Fr.,* 1891, 38, 176 et 232.
MANGIN (L.) (4). — Observations sur la constitution de la membrane chez les Champignons. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1893, 117, 816.
MANGIN (L.) (5). — Sur la constitution de la membrane chez quelques Champignons, en particulier chez les Polyporées. *Bull. Soc. bot. Fr.,* 1894, 41, 375.
MANGIN (L.) (5 *bis*). — Sur un essai de classification des mucilages. *Bull. Soc. bot. Fr.,* 1894, 41, XL.
MANGIN (L.) (6). — Observations sur la membrane des Mucorinées. *Journ. de Bot.,* 1899, 13, 209.
MANGIN (L.) (7). — Nouvelles observations sur la callose. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1910, 151, 279,
MANGIN (L.) et PATOUILLARD (N.). — Les Atichiales, groupe aberrant d'Ascomycètes inférieurs. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1912, 154, 1.475.
MANGIN (L.) et VIALA. — Etude du *Bornetina Corium. Rev. de Viticulture,* 1903.
MAUBLANC. — Champignons comestibles et vénéneux. Lechevalier, 1939.
MEYER (H. K.) et BERNFELD (P.). — Recherches sur l'amidon XIV. La réaction colorée à l'iode de l'amidon et du glycogène. *Helv. chim. Acta,* 1941, 24, 389.
MEYER (H. K.) et MARK (H.). — Der Aufbau der hochpolymeren organischen Naturstoffe. Leipzig. 1930.
MELZER (V.). — L'ornementation des spores des Russules. *Bull. Soc. mycol. Fr.,* 1924, 40, 78.
NORMAN (A. G.). — The biochemistry of cellulose, the polyuronides, lignine, etc. Oxford, 1937.
PASTAC (I. A.). — Les matières colorantes des Champignons. *Rev. de Mycol.,* 1942, Mém. N° 2.
PAYEN. — Complément d'un mémoire sur la composition chimique du tissu propre des végétaux phanérogames. *Ann. Sc. Nat.,* 1840, 14, 73.
PETERSON (H. E.). — Studier over Ferskvands-Phycomyceter. *Bot. Tidskrift,* t. 29.

PONTILLON (Ch.). — Sur l'existence de résines chez le *Sterigmatocystis nigra*. *C. R. Ac. Sc.* Paris, 1929, 413.

PROSKURIAKOW (N. J.). — Uber die Beteiligung des Chitins am Aufbau der Pilzzellwand. *Biochem. Ztschrift*, 1926, 167, 68.

QUILLET. — Recherches biochimiques et physiologiques sur les Mucilages des Champignons supérieurs. *Thèse Sc. nat. Paris*. 1942.

ROLLAND (L.). — De la coloration en bleu développée par l'iode sur divers champignons et notamment sur un Agaric. *Bull. Soc. mycol. Fr.*, 1887, 3, 134.

ROQUES (H.). — Sur un nouveau procédé de fixation et de coloration des mucilages chez les Végétaux. *C. R. Soc. Biol.* 1927, 97, p. 85.

SALKOWSKI (E.). — Uber die Cellulose der Flechten und Hefe, sowie über den Begriff « Hemicellulose » und die Hefeautolyse. *Zeitschr. f. physiol. Chemie*, 1921, 114, 31.

SCHAEDE (R.). — Die Actinomyceten-Symbiose von *Myrica Gale*. *Planta*, 1939, 29, 32.

SCHMIDT (M.). — Mikrochemische Untersuchungen über das Vorkommen von Chitin bei Mikroorganismen. *Arch. f. Mikrobiol.*, 1936, 7, 241.

SCHOLL (E.). — Die Reindarstellung des Chitins aus *Boletus edulis*. *Monatshefte f. Chemie*, 1908, 29, 1.023.

SCHUSSNIG (B.) et BECKER (S.). — Mikrochemische Untersuchungen der Ascusmembran als Beitrag zur Phylogenie des Ascus. *Planta*, 1927, 4, 573.

SENFT (E.). — Ueber das Vorkommen der sogenannten Phytomelane und über die humifizierten Membranen bei Kryptogamen. *Pharm. Post*, 1913, 46, 852.

SIEBER (N.). — Beiträge zur Kenntniss der chemischen Zusammensetzung der Schimmelpilze. *Journ. f. prakt. Chemie*. N. F. 1881, 23, 412.

TAKATA (R.). — Die Verwendung von Mikroorganismen für menschliche Nahrungsmittel (*Aspergillus Oryzae*). *Chem. Zentralbl.* 1930, 1, 605.

TAKEDA (K.). — Chemische Untersuchungen über Bukuryo, die Skleriten von *Pachyma Hoelen*. *Chem. Zentralbl.* 1936, 1, 2371.

TANRET (C.) (1). — Recherches sur les Champignons. *Bull. Soc. chim. Fr.*, 1897, S 3, 17, 921.

TANRET (C.) (2). — Sur les relations de la callose avec la fongose. *C. R. Ac. Sc. Paris*, 1910, 151, 447.

THAYSEN et BUNKER. — The microbiology of cellulose, hemicelluloses, pectin and gums. Oxford. 1927.

THOM (Ch.) et PHILIPPS (M.). — Lignin-like complexes in fungi. *Journ. Wash. Acad. of Sc.* 1932, 22, 237.

THOMAS (R. C.) (1). — Composition of fungus hyphae. I. The *Fusaria*. *Amer. Journ. of Bot.*, 1928, 15, 537.

THOMAS (R. C.) (2). — Composition of fungus hyphae. II. *Sclerotinia*, *ibid*, 1930, 17, 779.

TOPIN (J.). — Notes sur les cristaux et les concrétions des Hyménomy-

cètes et sur le rôle physiologique des cystides. *Thèse Pharm.*, Paris, 1901.

TSCHIRCH (A.) et STOCK (E.). — Die Harze, 1936. Berlin.

TSWETT (M.). — Sur un nouveau réactif colorant de la callose. *C. R. Ac. Sc. Paris,* 1911, 153, 503.

VAUQUELIN. — Expériences sur les Champignons. *Ann. de Chimie,* 1813, 85, 5.

VOUK (V.). — Zur Kenntnis der mikrochemischen Chitin-Reaktionen. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 1915, 33, 413.

VUILLEMIN (P.). — Recherches morphologiques et morphogéniques sur la membrane des zygospores. *Ann. Mycol.*, 1904, 2, 483.

WETTSTEIN (Fr. v.) — Das Vorkommen von Chitin und seine Verwertung als systematischphylogenetisches Merkmal im Pflanzenreich. *Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien.* Abt. I. 1921, 130, 3.

WINTERSTEIN (E.) (1). — Zur Kenntniss der Pilzcellulose. *Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, 1893, 11, 441.

WINTERSTEIN (E.) (2). — Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile. *Zeitschr. f. physiol. Chemie,* 1894, 19, 521.

WINTERSTEIN (E.) (3). — Ueber ein stickstoffhaltiges Spaltungsprodukt der Pilzcellulose. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1894, 27, 3.113.

WINTERSTEIN (E.) (4). — Zur Kenntniss der in den Membranen der Pilze enthaltenen Bestandtheile. *Zeitschr. f. physiol. Chemie,* 1895, 21, 134.

WINTERSTEIN (E.) (5). — Ueber die Spaltungsprodukte der Pilzcellulose. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.*, 1895, 28, 167.

WINTERSTEIN (E.) (6). — Ueber zwei aus Polyporusarten darstellbare Kohlenhydrate. *Ber. d. deutsch. chem. Ges.* 1895, 28, 774.

WISSELINGH (C. VAN) (1). — Sur la lamelle subéreuse et la subérine. *Arch. néerl. Sc. ex. et nat.*, 1893, 26, 305.

WISSELINGH (C. VAN) (2). — Mikrochemische Untersuchungen über die Zellwände der Fungi. *Jahrb. f. wiss. Bot.*, 1898, 31, 619.

WISSELINGH (C. VAN) (3). — Die Zellmembran. Linsbauers *Handbuch der Pflanzenanatomie,* Berlin, 1924.

ZECHMEISTER (L.) et TÓTH (G.) (1). — Vergleich von pflanzlichem und tierischem Chitin. *Zeitschr. f. physiol. Chemie,* 1934, 223, 53.

ZECHMEISTER (L.) et TÓTH (G.) (2). — Uber die Polyose der Hefemembran. I et II. *Biochem. Zeitschr.*, 1934, 270, 309 et 1936, 284, 133.

ZECHMEISTER (L.) et TÓTH (G.) (3). — Chitin und seine Spaltprodukte. *Fortschr. d. chem. org. Naturstoffe,* 1939, 2, 212.

ZELLNER (J.). — Chemie der höheren Pilze. Leipzig, 1907.

ZIEGENSPECK (H.). — Uber Zwischenprodukte des Aufbaues von Kohlenhydratzellwänden und deren mechanischen Eigenschaften. *Bot. Archiv.* 1925, 9, 297.

ZOPF (W.). — Die Pilze, Breslau, 1890.

SOMMAIRE

N° d'Autorisation S. 114.

Le Mans. — Imprimerie MONNOYER. — 1943.